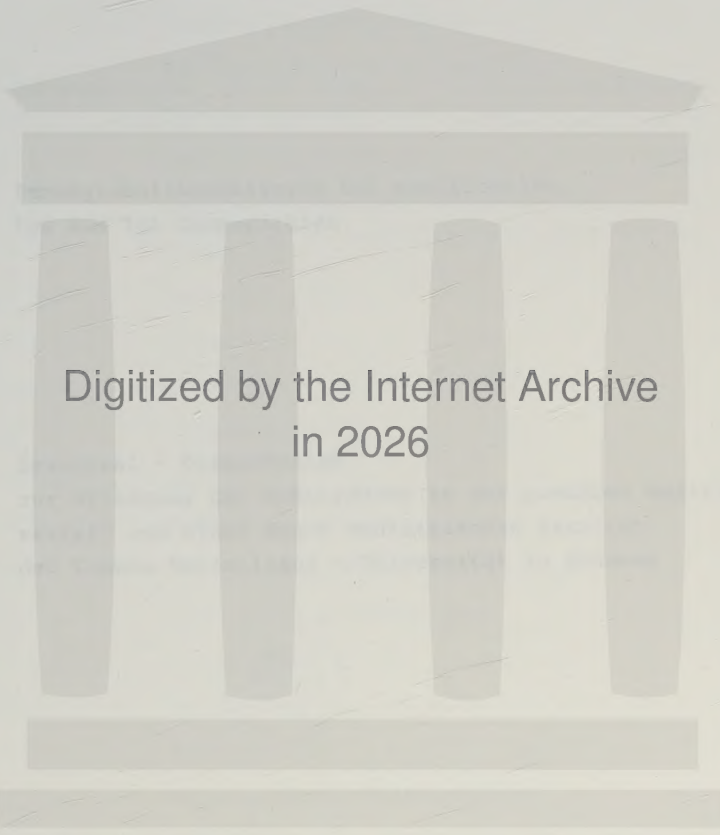


**Immunglobulinsubklassen bei monoklonalen
IgG und IgA Gammopathien**

Jürgen Saile

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548319_0061

AUS DEM INSTITUT FÜR KLINISCHE CHEMIE
AM KLINIKUM GROSSHADERN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. M. Knedel

Immunglobulinsubklassen bei monoklonalen
IgG und IgA Gammopathien

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
Jürgen Saile

München 1980

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. A. Fateh-Moghadam
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. M. Knedel
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 26. 2. 1980



Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung und Fragestellung	1
2. Allgemeine Übersicht	4
2.1. Struktur der Immunglobuline	4
2.1.1. Schwerkettenstruktur	5
2.1.2. Leichtkettenstruktur	7
2.1.3. Besonderheiten bei IgA Molekülen	8
2.1.3.1. Serum IgA	8
2.1.3.2. Exokrines IgA	9
2.1.3.3. J-Kette	10
2.1.3.4. SC-Stück	10
2.2. Subklassen	11
2.2.1. IgG	11
2.2.2. IgA	12
2.3. Charakteristika der Subklassen	14
2.3.1. Genetische Eigenschaften	14
2.3.2. Umsatzkinetik	16
2.3.2.1. Synthese	16
2.3.2.2. Katabolismus	17
2.3.3. Physikalische Eigenschaften	19
2.3.3.1. Viskosität	19
2.3.3.2. Kryoglobuline	19

	Seite
2.3.4.	Chemische Eigenschaften 20
2.3.4.1.	Pepsin, Plasmin und Papainempfindlichkeit der IgG-Subklassen 20
2.3.5.	Immunologische Eigenschaften 22
2.3.5.1.	Komplementaktivierung 22
2.3.5.2.	Rheumafaktoren 24
2.4.	Klinische Bedeutung 24
2.4.1.	IgG-Subklassen bei Lupus erythematodes 24
2.4.2.	Immunglobuline bei chronischer, membranöser Glomerulonephritis 25
2.4.3.	IgG-Subklassenverteilung bei Anti-thyreoglobulinantikörpern 25
2.4.4.	IgG-Subklassen bei Patienten mit rheumatoider Arthritis 26
2.4.5.	Diaplazentare Übertragung der Immunglobulinsubklassen 28
2.5.	Methoden zur Subklassenbestimmung 29
2.5.1.	Bestimmung der Subklassen mit der Ouchterlony Doppeldiffusionstechnik 29
2.5.2.	Immunelektrophorese 30
2.5.3.	Bestimmung der Subklassen durch enzymatische Spaltung 30
2.5.4.	Bestimmung der Subklassen durch Autoradiographie 31
2.5.5.	Subklassenbestimmung durch isoelektrische Fokussierung 32

	Seite
3. Eigene Untersuchungen	34
3.1. Untersuchungsmethoden	34
3.1.1. Immunelektrophorese	34
3.1.2. Säulenchromatographie	36
3.2. Untersuchungsgut	40
3.3. Ergebnisse	40
3.3.1. Verteilung der IgG-Subklassen	40
3.3.1.1. Beziehung zu epidemiologischen Parametern	41
3.3.1.1.1. Altersverteilung	41
3.3.1.1.2. Geschlechtsverteilung	42
3.3.1.2. Beziehung zu proteinchemischen Parametern	43
3.3.1.2.1. Gesamteiweiß	43
3.3.1.2.2. Albuminkonzentration	44
3.3.1.2.3. Alpha1-Konzentration	45
3.3.1.2.3. Alpha2-Konzentration	46
3.3.1.2.5. M-Gradient	47
3.3.1.2.5.1. Elektrophoretische Mobilität des M-Gradienten	47
3.3.1.2.5.2. Konzentration des M-Gradienten	48
3.3.1.2.6. Leichtkettentyp	49
3.3.1.3. Beziehung zu hämatologischen Parametern	50
3.3.1.3.1. BKS	50
3.3.1.3.2. Erythrozyten	51
3.3.1.3.3. Leukozyten	52

	Seite
3.3.2. Verteilung der Subklassen bei IgA-Myelomen	53
3.3.2.1. Beziehung zu epidemiologischen Parametern	54
3.3.2.1.1. Alter	54
3.3.2.1.2. Geschlecht	55
3.3.2.2. Beziehung zu proteinchemischen Parametern	56
3.3.2.2.1. Gesamteiweiß	56
3.3.2.2.2. Albuminkonzentration	57
3.3.2.2.3. Alpha1-Konzentration	58
3.3.2.2.4. Alpha2-Konzentration	59
3.3.2.2.5. Leichtkettentyp	60
3.3.2.3.6. M-Gradient	61
3.3.2.3.6.1. Mobilität	61
3.3.2.3.6.2. Konzentration	62
3.3.2.3. Beziehung zu hämatologischen Parametern	63
3.3.2.3.1. BKS	63
3.3.2.3.2. Erythrozyten	64
3.3.2.3.3. Leukozyten	65
4. Diskussion	66
4.1. Methodik	66
4.2. Ergebnisse	67
4.2.1. IgG	67
4.2.1.1. Verteilung der Subklassen	67
4.2.1.2. Epidemiologische Parameter	70

	Seite
4.2.1.2.1.	Alter 70
4.2.1.2.2.	Geschlecht 71
4.2.1.3.	Proteinchemische Parameter 72
4.2.1.3.1.	Gesamteiweiß 72
4.2.1.3.2.	Albumin 72
4.2.1.3.3.	Konzentration des M-Gradienten 73
4.2.1.3.4.	Leichtkettentyp 73
4.2.1.4.	Hämatologische Parameter 74
4.2.1.4.1.	BKS 74
4.2.2.	IgA 74
4.2.2.1.	Verteilung der Subklassen 74
4.2.2.2.	Epidemiologische Parameter 75
4.2.2.2.1.	Alter 75
4.2.2.3.	Proteinchemische Parameter 75
4.2.2.3.1.	Gesamteiweiß 75
4.2.2.3.2.	Leichtkettentyp 75
4.2.3.	Klinische Parameter 76
5.	Zusammenfassung 78
6.	Literatur 79

1. Einleitung und Fragestellung

Der menschliche Körper hat zur spezifischen Abwehr eines fremden Antigens zwei Systeme zur Verfügung: die Lymphozyten als Träger der zellulären Immunantwort und die Antikörper als Funktionsträger der humoralen Immunität. 1939 wiesen Tiselius und Kabot nach, daß die meisten Antikörper in der elektrophoretischen Gammaglobulinfraktion, teilweise auch in der α_2 und β -Fraktion liegen. Nach einem Vorschlag von Heremans und Hitzig werden Serumglobuline mit Antikörperaktivität als Immunglobuline bezeichnet.

Nach der Definition der WHO von 1964 versteht man heute unter Immunglobulinen alle Eiweißkörper menschlichen oder tierischen Ursprungs mit Antikörperaktivität und Proteine, die ihnen in der chemischen Struktur und Antigenspezifität ähneln. Seit Einführung der Immunelektrophorese kennt man heute fünf Immunglobulinklassen: IgG, IgA, IgM, IgD und IgE. Alle Moleküle dieser Immunglobuline zeigen einen im Prinzip ähnlichen Aufbau.

Durch die Vielzahl der antigenen Strukturen, die bei den einzelnen Krankheiten wirksam werden, müssen entsprechend viele Zellklone zur Antikörperbildung induziert werden. Es entsteht somit eine Reihe spezifischer Antikörpermoleküle mit unterschiedlicher Primärstruktur, Funktion und physiko-chemischen Eigenschaften, wie zum Beispiel einer unterschiedlichen elektrophoretischen Mobilität.

Daraus resultiert eine elektrophoretisch breitbasig erscheinende Vermehrung der Gammaglobulinfraktion, die man polyklonale Gammopathie nennt.

Im Gegensatz dazu findet man bei Plasmozytomen und bei M. Waldenström eine monoklonale Vermehrung der Gammaglobulinfraktion mit einer Vermehrung von physiko-chemisch, antigenetisch und wahrscheinlich auch funktionell einheitlichen Immunglobulinen. Diese Paraproteine zeigen im Prinzip denselben Strukturaufbau

wie normale Immunglobuline.

Die frühere Annahme, es handle sich dabei um funktionell inerte, abnorm strukturierte Immunglobuline hat sich nicht bewahrheitet. Arbeiten von Fateh- Moghadam (30) zeigten die große Ähnlichkeit des elektrophoretischen Verteilungsmusters, des Leicht- und Schwerkettenverhältnisses, der Frequenzverteilung der genetischen Merkmale, dem säulenchromatographischen und sedimentationsanalytischen Verhalten von Immunglobulinen und Paraproteinen. Nach einem Vorschlag von Waldenström werden diese Erkrankungen als monoklonale Gammopathien bezeichnet.

Die neoplastisch entartete Plasmazelle produziert ein Übermaß an homogenen (monoklonalen) Immunglobulinen, deshalb gehören diese immer nur einer Klasse bez. Subklasse und einer Leichtkettengruppe an.

Zu Beginn der 60iger Jahre konnten amerikanische Arbeitsgruppen zeigen, daß die Immunglobulinklasse G aus vier Subklassen besteht, die sich allein im Aufbau der Schwerketten unterscheidet. Diese subklassenspezifischen Merkmale besitzen jedoch im Gegensatz zu den klassenspezifischen Strukturmerkmalen der Immunglobuline nur schwache Antigeneigenschaften. Deshalb ist die Gewinnung von spezifischen Antiseren zum qualitativen und quantitativen Nachweis der Subklassen schwierig. Diesem Umstand ist es in erster Linie zuzuschreiben, daß die Immunglobulinsubklassen im klinisch immunologischen Labor bisher kaum differenziert wurden.

In folgender Arbeit soll nach einer zusammenfassenden Darstellung der Struktur der Immunglobuline anhand der bisher in der Literatur beschriebenen Fälle mit monoklonalen Gammopathien und eigener Untersuchungen zu folgenden Fragen Stellung genommen werden:

- a) Entspricht die Häufigkeit der Subklassen bei monoklonalen IgG und IgA Gammopathien der Normalverteilung, oder tritt eine Subklasse häufiger auf.

- b) Alters- und Geschlechtsverteilung der Subklassen bei monoklonalen Gammopathien
- c) Bewertung proteinchemischer- und hämatologischer Parameter zur Immunglobulinsubklasse bei monoklonalen Gammopathien
- d) Verteilung der Subklassen bei polyklonalen Gammopathien anhand von Literaturfällen.

2. Allgemeine Übersicht

2.1. Struktur der Immunglobuline

Alle bis heute bekannten Immunglobulinklassen G, A, M, D, E besitzen einen einheitlichen Aufbau Abb. 1.

Durch Behandlung mit reduzierenden Reagenzien (z.B. Mercapto-äthanol) und anschließender Alkylierung erhält man vier Polypeptidketten, die sich aufgrund ihrer Aminosäurezahl in je zwei Schwerketten und zwei Leichtketten einteilen lassen (24, 120).

Dabei bestehen die **S c h w e r k e t t e n** aus ca. 450 Aminosäuren (18) mit einem Molekulargewicht von 52000. Sie sind damit doppelt so lang wie die **L e i c h t k e t t e n** mit 214-222 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von ca. 20000.

Die **B i n d u n g** jeder Leichtkette an eine Schwerkette ist durch eine Disulfidbrücke am C-terminalen Ende gegeben. Die Schwerketten untereinander sind ebenfalls mit S-S Brücken verbunden. Durch intrachain Disulfidbrücken bilden sich jeweils 60 Aminosäuren umfassende Schlingen, die auf das ganze Molekül stabilisierend wirken (96). Die Antikörperbindungsstelle befindet sich am N-terminalen Ende.

Eine **S p a l t u n g** in Fragmente ist möglich Abb. 1. Bei der Papainspaltung ergibt sich ein Fc- und zwei Fab-Fragmente, jeweils bestehend aus einer Leichtkette und dem Fd Stück der Schwerkette.

Pepsin spaltet hinter den S-S Brücken der Hinge Region, so daß die beiden Fab Stücke verbunden sind. Man nennt dieses Fragment (Fab')₂.

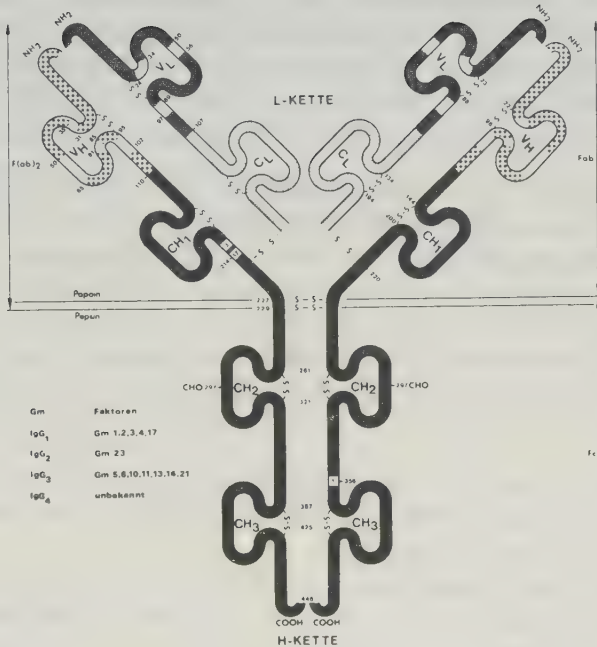


Abb. 1 Schematische Struktur des IgG₁ Moleküls (Eu)

2.1.1. Schwerkettenstruktur

Die Schwerketten werden je nach Herkunft mit griechischen Buchstaben gekennzeichnet:

IgG: γ Kette

IgD: δ Kette

IgA: α Kette

IgE: ϵ Kette

IgM: μ Kette

Aufgrund der Lage der Disulfidbrücken und Unterschiede in der Aminosäuresequenz unterteilt man in jeder Klasse weitere Unterklassen. Dabei sind für IgG vier (134, 165), für IgA zwei (150) und für IgM ebenfalls zwei (37) bekannt. Für IgD und IgE sind noch keine Subklassen bekannt, man muß dabei jedoch berücksichtigen, daß das IgD und das IgE nur in einer Konzentration von 0,01% bez. 0,00003 g/dl im Normalserum vorkommt.

Wie bereits erwähnt, kann man durch Reduktion und Alkylierung die Immunglobuline in vier Polypeptidketten zerlegen, welche man ihrerseits vom N-terminalen Ende her auf ihre Aminosäuresequenz untersucht hat. Die Gesamtstruktur ist von einem IgG1 Molekül (Eu) vollständig bekannt (25), von einem anderen (He) ist die Aminosäuresequenz der Schwerketten bekannt (119). Bei zwei weiteren Molekülen kennt man die Struktur bis etwa zur Hälfte (112).

Aufgrund von Sequenzvergleichen lassen sich die Schwerketten genauso wie die Leichtketten in eine konstante (c) und eine variable (v) Region gliedern.

Der variable Teil am N-terminalen Ende enthält etwa 117 Aminosäuren und die Antigenbindungsstelle des Moleküls. Der Rest der Schwerkette, die konstante Region, gliedert sich in drei Abschnitte, deren Aminosäuresequenz untereinander sehr ähnlich sind und deshalb homologe Regionen genannt werden. Man bezeichnet sie mit CH1, CH2 und CH3. Die Gesamtzahl der Aminosäuren der konstanten Region beträgt bei den Schwerketten etwa 310 Aminosäuren, bei den Leichtketten etwa 110.

Die variable und die drei homologen Regionen enthalten jeweils eine Disulfidbrücke, die ca. 60 Aminosäuren umfaßt und diese in einer Art Schlinge zusammenhält. Dieser periodische Aufbau des Moleküls führte zur sogenannten "domain hypothesis" (26), wonach das Polypeptid aus vier kompakten globulären

Strukturen besteht, die durch kürzere, losere Strecken der Polypeptidkette verbunden sind.

Die Aminosäuresequenz in der variablen Region des Moleküls ist für die Antikörperspezifität verantwortlich. Die auf dem konstanten Teil gelegenen Domänen sind für die immunologischen Eigenschaften zur Komplementbindung, Reaktion mit Rheumafaktoren und Rezeptoren der Zellmembran sowie den Transfer durch die Plazenta von Bedeutung.

In der Mitte der Kette, zwischen der ersten homologen Region CH1 und der zweiten CH2 liegt ein kürzerer Abschnitt, in dem sich die Disulfidbrücken befinden, welche die beiden Schwerketten miteinander sowie die leichten mit den schweren Ketten verbinden. Im Bereich dieser Gelenkstelle finden sich die größten Sequenzunterschiede der einzelnen Subklassen.

2.1.2. Leichtkettenstruktur

Innerhalb der Leichtketten unterscheidet man zwei Antigentypen (29) Kappa und Lambda. Im normalen menschlichen Serum sind Immunglobuline beider Leichtkettentypen vorhanden. Ein Molekül enthält jedoch entweder nur Kappa oder nur Lambda. Bezogen auf die Subklassen der IgG Schwerketten ergibt sich folgende Verteilung von Kappa und Lambda (138):

Kappa:Lambda	
IgG1	2 : 1
IgG2	1 : 1
IgG3	1 : 1
IgG4	3 : 1

Durch Sequenzanalysen wurde festgestellt, daß sich die Leichtketten entsprechend den Schwerketten ebenfalls in einen variablen Teil, V-Region genannt, und einen konstanten Teil, die C-Region gliedern (120, 62). Dabei liegt die variable Region am N-terminalen Ende und die konstante Region

am C-terminalen Ende. Beide Regionen bestehen meist aus 107 Aminosäuren, in Einzelfällen kann das N-terminale Ende jedoch mehrere Aminosäuren zusätzlich haben, so daß die Gesamtzahl der Aminosäuren zwischen 210 und 230 schwankt(64). Sehr variabel ist die Sequenz der ersten 98 Aminosäuren, wobei sich besonders für die Positionen 24-34, 50-56 und 89-97 Unterschiede ergeben. Im Sequenzvergleich unterscheiden sich zwei Proteine vom Typ Kappa in 16-60, vom Typ Lambda 40-53 Aminosäuren. Die oben erwähnten Längendifferenzen beider Leichtkettentypen werden durch Aminosäureeinschiebungen hinter Position 27 verursacht.

In der konstanten Region, die charakteristisch für den immunologischen Typ Kappa oder Lambda und jede Spezies ist, wurde bis heute nur eine genetisch bedingte Abweichung in der Aminosäuresequenz in Position 190 bzw. 191 beobachtet. Bei Kappa Ketten ist die Position 191 entweder mit Leucin im Falle der Eigenschaft Inv(a) besetzt oder mit Valanin, wenn die Allotypie Inv(b) vorliegt. Bei Lambdaketten fand man die sogenannten Oz Eigenschaften, bei Oz(+) findet man in Position 190 Lysin, bei Eigenschaft Oz(-) Argenin.

2.1.3. Besonderheiten bei IgA Molekülen

Bei den IgA Molekülen kennt man zwei Hauptformen:
Serum IgA und exokrines IgA.

2.1.3.1. Serum IgA

Das Serum IgA repräsentiert etwa $1/6$ der Gesamtimmunglobuline ($2,6 \pm 1,1$ mg/ml) und besteht zu etwa 85 % aus monomerem IgA, zu etwa 10-15 % aus polymerem $(\text{IgA})_n$.J (meist Dimeren) und einer J Kette (siehe unten) und zu 1 % aus $(\text{IgA})_n$.J.SC Molekülen, wobei mit der SC Kette ein zusätzlicher Baustein eingefügt wird (90a).

2.1.3.2. Exokrines IgA

Das exokrine IgA kommt in verschiedenen exokrinen Organen vor und ist die Hauptkomponente unter den Immunglobulinen in Tränenflüssigkeit, gastrointestinalen- und tracheobronchialen Sekretionen (14). Im Serum ist es nur in geringen Mengen von 5,2 µg/ml vorhanden. Der Sedimentationskoeffizient liegt zwischen 11,4 und 11,6 (143, 169). Exokrines IgA enthält mehr Hexose, Hexosamin und Fukose, aber weniger Sialinsäure als Serum IgA (142). Ein Molekül exokrines IgA (MG 380 000) besteht aus zwei Molekülen IgA, einem SC Stück (65000) und der J-Kette (15000) Kurzbezeichnung: (IgA)₂.SC.J.

Ein mögliches Modell zeigt Abb. 2. Die J-Kette wird vermutlich durch Disulfidbrücken in einer zentralen Position gehalten. Das SC-Stück ist schraubenförmig um die Oberfläche des Fc-Zylinders von der Gelektstelle des einen Monomers zur Gelenkstelle des anderen Monomers gewickelt. Die Bindung erfolgt über Disulfidbrücken und wird durch nicht kovalente Kräfte verstärkt.

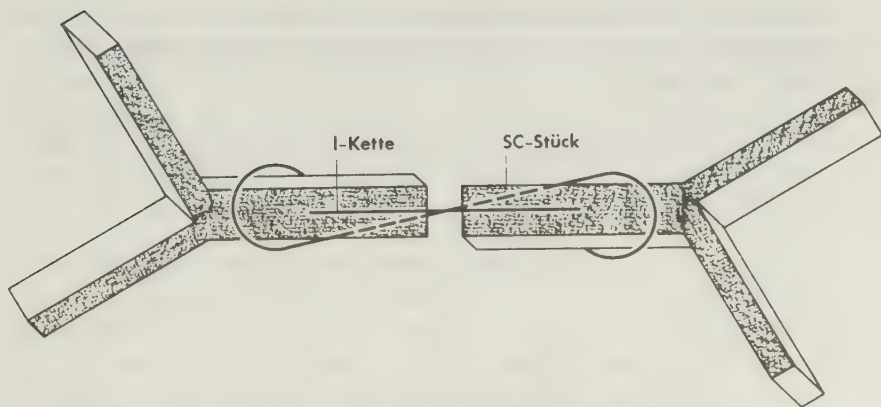


Abb. 2 Schematisches Modell des sekretorischen IgA
nach Mestecky und Lawton (90a)

2.1.3.3. J-Kette

Im menschlichen sekretorischen IgA wurde ein schnell wanderndes Polypeptid gefunden, das unabhängig vom Reinigungsverfahren immer in der Leichtkettenfraktion auftrat. Experimente mit Gelfiltration zeigten, daß das Molekulargewicht dieses Polypeptids annähernd dem der Leichtketten entspricht. Zunächst vermutete man, dieses Peptid sei ein Teil des SC-Stücks (143). Halpern und Koshland (56) stellten aber später fest, daß das SC-Stück und die J-Kette unterschiedliche Proteine sind. Die J-Kette tritt nur in der polymeren Form des IgA auf, nicht dagegen im monomeren 7S IgA. Daraus schließt man, daß die J-Kette für die polymere Struktur des IgA verantwortlich ist (56).

Die J-Kette wird von den gleichen Zellen synthetisiert, welche auch die Immunglobuline, an die sie gebunden sind, herstellen (111, 88).

2.1.3.4. SC-Stück

Das sekretorische IgA Molekül enthält zusätzlich eine Polypeptidkette, welche sekretorische Komponente (SC-Stück) genannt wird Abb. 2.

Das Molekül besteht aus einer einfachen Polypeptidkette und enthält etwa 9 % Kohlehydrate. Für das Molekulargewicht werden Angaben zwischen 54000 und 80000 Dalton gemacht.

Die Subklassen IgA1 und IgA2 können beide das SC-Stück binden. Ein Hinweis auf die Funktion des SC-Stücks ergibt sich aus den IgA2 Proteinen des Allotyps A2m(1), bei denen die L-H Disulfidbrücke fehlt. Hier erhöht sich die Stabilität des Moleküls gegenüber denaturierenden Agentien nach Kombination mit dem SC-Stück. Zusätzlich kommt das SC-Stück in ungebundener Form in der Muttermilch vor. Hier werden die Formen mit einem Molekulargewicht von 80000 Dalton gefunden.

2.2. Subklassen

2.2.1. IgG

Es existieren vier Subklassen des IgG Moleküls, die sich in der unterschiedlichen Aminosäuresequenz und in der Zahl der Disulfidbrücken unterscheiden.

Die Hauptunterschiede in der Aminosäuresequenz liegen an der Scharnierstelle, in den Positionen 221-233 (IgG Protein EU (63,140)).

Das Molekulargewicht der IgG3 - Subklasse liegt etwas höher als das der restlichen Subklassen. Nach Saluk und Clem (122) ist das Molekulargewicht der Schwereketten von IgG3 um ca. 7000 Daltons höher, was einem Überschuß von 60-70 Aminosäuren entsprechen würde. Dieser Überschuß ist offenbar durch Unterschiede im $F(ab')_2$ Bereich bedingt. Demnach beträgt das Molekulargewicht einer IgG3-Schwerkette ca. 61000 im Gegensatz zu 54000 für IgG1, IgG2 und IgG4 (161). Das Molekulargewicht für IgG1-, IgG2- und IgG4 Moleküle schätzt man auf rund 155000, während das Molekulargewicht von IgG3 bei ca. 170000 liegt.

Nach Frangione (34) sind die Schwereketten von IgG1 und IgG4 mit zwei Disulfidbrücken verbunden, bei IgG2 sind es vier und bei IgG3 fünf, wobei die Lage von zwei Disulfidbrücken nicht genau bekannt ist. Die Abbildung 3 zeigt die unterschiedliche Anordnung der Disulfidbrücken von IgG1 - IgG4.

Dieses Ergebnis wurde allerdings in neueren Untersuchungen von Michaelsen (93, 94) für IgG3 korrigiert, er fand fünfzehn Disulfidbrücken, alle an der Scharnierstelle.

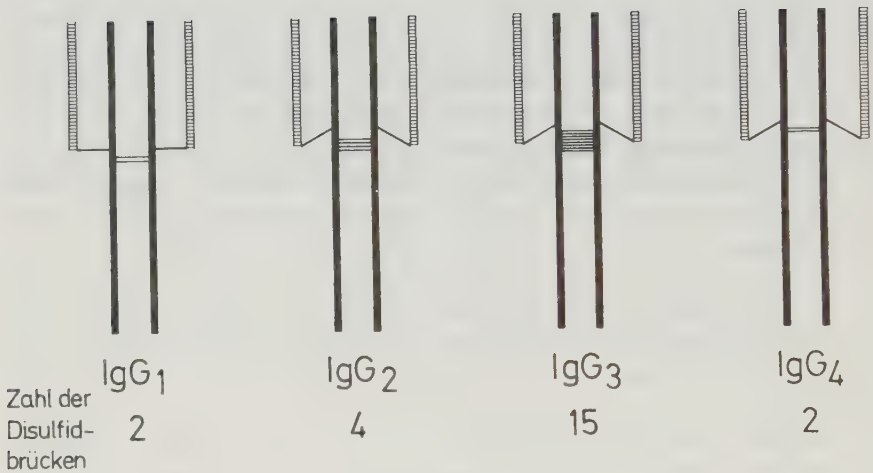


Abb. 3 Anordnung der Disulfidbrücken bei den IgG-Subklassen.

2.2.2. IgA

Es existieren zwei Subklassen des IgA. IgA1 und IgA2 unterscheiden sich in der Schwerekettenstruktur und der Art der Disulfidbrücken (32, 77, 150). Normales Serum IgA enthält die beiden Subklassen IgA1 und IgA2 in einem Verhältnis von 9 : 1.

Die Existenz zweier Subklassen entdeckte man durch den Vergleich der Seren mit der Ouchterlony Diffusionstechnik (109). Das Molekulargewicht der Alpha1- und Alpha2-Ketten beträgt 52000 bzw. 58000 (97, 23). Daraus kann man wie bei IgG auf vier Domänen in jeder Subklasse schließen. Wo die überzähligen Aminosäuren im IgA2-Molekül lokalisiert sind, ist unbekannt.

Menschliches Serum IgA enthält etwa 8-10 % Kohlenwasserstoffe, die aus Fukose, Mannose, Galaktose, N-Glukosamin und Sialinsäure (21) bestehen. An IgA Myelomproteinen konnte heute gezeigt werden, daß der Kohlehydratgehalt (132, 135, 139) z.B. der Hexosegehalt zwischen 2,5 und 17 % variiert.

Es existieren sechs Bindungsorte für die Kohlenwasserstoffe im IgA Myelomprotein. Galaktose und N-azetylgalaktosamin enthaltende Kohlenwasserstoffgruppen werden an der Scharnierstelle des Moleküls gebunden und sind nur im IgA1-Molekül enthalten (51). Zucker, die Galaktosamin enthalten, werden gewöhnlich nicht an IgA2 gebunden. Das Fehlen dieser Kohlehydratgruppe in IgA2 bezieht sich wahrscheinlich auf das Fehlen von 12-13 Aminosäuren in der Gelenkstelle, verglichen mit IgA1 (35).

2.3. Charakteristika der Subklassen

2.3.1. Genetische Eigenschaften

1956 zeigten Grubb und Waller unabhängig voneinander, daß bestimmte Seren von Patienten mit prim. chron. Polyarthritits die Fähigkeit besitzen, sensibilisierte Rh+ Erythrozyten zu agglutinieren (53, 54, 55, 158). Mit gepooltem Normalserum läßt sich die Hämagglutination inhibieren. Nimmt man jedoch individuelle Seren, so tritt die Inhibition nur bei einem Teil der Seren auf. Diese Seren nannte Grubb Gm(a+), die anderen, bei denen keine Inhibition auftrat Gm(a-).

Dieser Hemmfaktor wurde durch elektrophoretische und chemische Fraktionierung auf den Immunglobulinen des Serums gefunden. Man stellte fest, daß die Gm-Eigenschaften autosomal vererbt werden.

Mittlerweile sind mehr als 20 andere genetisch determinierte Faktoren bekannt geworden. Myelomproteine sind ebenfalls Träger von Gm-Faktoren (59), es besteht allerdings ein Unterschied zu den Seren. Nach Untersuchungen von Harboe (59) sind die isolierten Proteine nur für einen Gm-Faktor positiv, während Seren oft für zwei Faktoren positiv sind.

Martensson (88) fand in manchen Fällen, in denen das Serum positiv reagierte, keinen Gm-Faktor.

Bestimmungen der Gm-Faktoren auf Myelomproteinen (55, 81, 83, 89, 90, 102) bekannter Subklassen ergaben folgenden Zusammenhang:

- G1 : Gm1, 2, 3, 4, 17
- G2 : Gm 23
- G3 : Gm5, 6, 10, 11, 13, 14, 21
- G4 : noch kein Gm-Faktor bekannt

Neben diesen, nur für eine Subklasse spezifischen Markern gibt es auch noch andere Faktoren, die auf mehreren Subklassen anzutreffen sind. Auf IgG1-Molekülen, die Gm1 negativ sind, existiert ein Faktor Gm(-1), der ebenso auf den Molekülen IgG2 und IgG3 vorhanden ist. Gm(-1) befindet sich nicht auf IgG4 Proteinen (104, 105). Genauso ist es bei IgG3-Seren, die Gm21 negativ sind, hier gibt es einen Faktor Gm(-21) der auf allen Molekülen IgG2 liegt.

Kürzlich wurde ein weiterer Marker "non b" entdeckt, der auf IgG1, IgG2 und auf Gm5 negativem IgG3 vorkommt (39, 84).

Bei IgG4-Proteinen gibt es zwei genetische Varianten, die eine, 4a, ist häufiger und liegt zusätzlich auch auf IgG1 und IgG3. Die andere, 4b, ist nur auf IgG2- und IgG4-Molekülen vorhanden.

Die meisten Gm-Faktoren sind auf dem Papain Fc-Fragment enthalten. Bekannt ist dies für die Faktoren Gm1, Gm2, Gm5, Gm21 und Gm23. Außerdem sind dort die G4 Varianten 4a und 4b nachweisbar.

Auf dem Papain Fab Fragment finden sich nur die Gm-Faktoren der IgG1-Subklasse, nämlich Gm3 und Gm4 sowie Gm17.

2.3.2. Umsatzkinetik

Quantitative Angaben über Synthese, Katabolismus und Verteilung der Immunglobuline im Organismus erhält man am besten durch Markierung der Proteine mit ^{131}J oder ^{125}J .

2.3.2.1. Synthese

Untersuchungen der Syntheseraten der einzelnen Subklassen von Morell für IgA und IgG (98) führten zu folgenden Ergebnissen:

(mg/kg/Tag)

IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
25 $\pm$ 14	9,4	3,4 $\pm$ 0,7	1,3

(mg/kg/Tag)

IgA1	IgA2
24,0	21,3

Die wesentlich höhere Syntheserate von IgG1 läßt sich dadurch erklären, daß die Zahl der IgG1 produzierenden Zellen viel größer ist als beispielsweise die der IgG3 produzierenden Zellen. Immunfluoreszenzuntersuchungen an menschlichen Milzzellen (4) haben diese Annahme unterstützt, dabei produzierten nur 10 % aller IgG positiven Zellen IgG3.

Weitere Untersuchungen an Knochenmarkpräparaten (99) zeigten, daß die IgG1 produzierenden Zellen mit 41 % aller IgG synthetisierenden Zellen überwiegen.

Der prozentuale Anteil der IgG-Plasmazellen im Knochenmark ergab folgendes Bild:

IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
40,7 $\pm$ 10,2	30,6 $\pm$ 8,9	21,7 $\pm$ 7,9	7,0 $\pm$ 4,2

2.3.2.2. Katabolismus

Untersuchungen von Solomon (130) zum Katabolismus von Immunglobulinen haben für IgG mit 23 $\pm$ 4 Tagen die längste Halbwertszeit aller menschlicher Plasmaproteine ergeben. Dieser Wert trifft im Durchschnitt auf die Subklassen IgG1, IgG2 und IgG4 zu. Messungen von Morell (98) ergeben für diese Proteine ähnliche Werte von 20,2 bis 21,2 Tage. Mit 7,1 Tagen ist aber die gemessene Halbwertszeit von IgG3 wesentlich kürzer.

Halbwerts-	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
zeit	21 $\pm$ 5	20 $\pm$ 2	7 $\pm$ 1	21 $\pm$ 3
Serumkonzentration mg/ml	6,9 $\pm$ 2,1	3,2	0,5 $\pm$ 0,17	0,46
Syntheserate mg/kg/Tag	25 $\pm$ 14	9,4	3,4 $\pm$ 0,7	1,3

Entsprechende Ergebnisse wurden auch von einem anderen Autor gefunden (134). Die katabole Rate, das ist der prozentuale Anteil des intravaskulären Pools, der pro Tag katabolisiert wird, liegt für IgG1, IgG2 und IgG4 zwischen 7 und 8 %. IgG3 dagegen wird wesentlich schneller katabolisiert: täglich werden 17 % des intravaskulären Pools eliminiert.

Untersuchungen von Morell (98) an 10 Myelompatienten, deren Seren eine stark erhöhte Konzentration einer Subklasse enthielten, ergaben bei IgG1 Myelomen eine deutliche Verkürzung der Halbwertszeit des IgG1-Moleküls. Bei jeweils einem Patienten mit einem IgG2 und einem mit IgG3-Paraproteinen konnte dieselbe Verkürzung festgestellt werden. Diese Untersuchungen lassen den Schluß zu, daß bei erhöhter Serumkonzentration einer Subklasse die biologische Halbwertszeit dieser Subklasse verkürzt ist.

Die verkürzte Halbwertszeit bei IgG1 Myelompatienten wurde jedoch nicht nur für IgG1, sondern auch für alle anderen Subklassen desselben Patienten ermittelt. Man kann daraus schließen, daß bei erhöhter Serumkonzentration einer Subklasse die biologische Halbwertszeit aller Subklassen erniedrigt ist.

Die biologische Halbwertszeit der übrigen Immunglobuline bei IgG Myelompatienten sind unverändert (99).

Die erniedrigten Serumkonzentrationen dieser Immunglobuline sind demnach auf eine verminderte Syntheserate zurückzuführen.

Die IgA-Subklassen unterscheiden sich ebenfalls in ihrem Metabolismus. Turnoverstudien von Morell ergaben folgende Werte:

	IgA1	IgA2
Halbwertszeit (Tage)	5,9	4,5
Serumkonzentration mg/ml	1,81	0,22
Syntheserate mg/kg/Tag	24,0	21,3

Die katabole Rate des intravaskulären Pools liegt für IgA1 bei 24 % pro Tag und für IgA2 bei 34 %.

2.3.3. Physikalische Eigenschaften

2.3.3.1. Viskosität

Eine erhöhte Serumviskosität ist eine häufige Komplikation der Makroglobulinämie Waldenström und macht sich bemerkbar, wenn die Serumviskosität den Grenzwert von 6-7 Centipoise überschreitet. Sie äußert sich im allgemeinen durch Schleimhaut- und Retinablutungen mit Visusverlust, dilatierten Retinavenen und zentralnervöse Störungen (28).

Bei IgG und IgA Myelompatienten ist es eine seltene Komplikation. Die erhöhte Serumviskosität wird meistens durch zirkulierende IgG-antiIgG bez. IgA-antiIgG Komplexe bewirkt, welche die Viskosität auf das 5-10-fache erhöhen (86, 129).

Capra und Kunkel isolierten die Komponenten bei 6 Myelompatienten mit Hyperviskositätssyndrom und stellten fest, daß die IgG3-Moleküle wesentlich häufiger auftraten als erwartet (10). Von den 6 untersuchten Seren waren drei IgG3-Myelomproteine und drei IgG1-Myelomproteine. Spätere Kontrollversuche (11) mit 12 Myelomproteinen ergaben eine Verteilung von 11 IgG1 und einem IgG2-Molekül. Aufgrund der niedrigen Fallzahl kann man aber über die Häufigkeit noch keine eindeutige Aussage machen. Außerdem stellte man bei IgG3-Myelomproteinen in steigender Konzentration eine höhere Viskositätszunahme fest als bei steigender IgG1-Konzentration. IgG3-Myelomproteine können also in wesentlich geringerer Konzentration eine Viskositäts-erhöhung bewirken als IgG1 (152).

2.3.3.2. Kryoglobuline

Kryoglobuline sind Proteine, meist Immunglobuline, die nach Abkühlen auf 4°C innerhalb von 24 Stunden ein Präzipitat bilden, gelieren oder die Viskosität erhöhen. Der Vorgang ist reversibel, das Präzipitat löst sich wieder nach Erwärmen auf 37°C (82).

Eine Kryoglobulinämie ist ein Symptom bei verschiedenen Krankheiten. Sie steht oft in Zusammenhang mit der Makroglobulinämie Waldenström und dem Multiplen Myelom. In solchen Fällen sind bedeutende Mengen Kryoglobuline im Serum vorhanden. Beim Multiplen Myelom ist die Kryoglobulineigenschaft durch das monoklonale Immunglobulin bedingt. In kleineren Mengen können Kryoglobuline auch bei anderen Erkrankungen wie Lupus erythematoses und anderen Kollagenosen auftreten (15).

Untersuchungen mit Ultrazentrifugen und spezifischen Antisera ergaben zwei Arten von Kryoglobulinen:

eine h o m o g e n e Art mit einer einzelnen Komponente, und eine h e t e r o g e n e Art mit zwei verschiedenen Komponenten (17).

homogen	heterogen
IgG	IgG-IgM
IgA	IgG-IgA-IgM
IgM	IgG-IgG
	IgG-IgA

Die heterogenen Kryoglobuline können als Immunkomplexe betrachtet werden, weil die einzelnen Komponenten allein nicht in der Kälte präzipitieren und ein Immunglobulin als Antiglobulin Antikörper gegen die IgG-Komponente gerichtet ist (3, 9, 71, 85, 118).

2.3.4. Chemische Eigenschaften

2.3.4.1. Pepsin, Plasmin und Papainempfindlichkeit der IgG-Subklassen

Durch Verdauung mit Pepsin lassen sich die IgG-Moleküle ähnlich wie bei der Papainverdauung in eine pepsinempfindliche und eine pepsinresistente Gruppe einteilen (147, 48). Nach

der Behandlung mit P e p s i n erhält man ein größeres, bivalentes $F(ab'')_2$ Fragment mit einem Molekulargewicht von etwa 106000, welches beide Antigenbindungsstellen enthält und ein kleineres Fragment mit einem Molekulargewicht von ca. 260000, das mit pFc' bezeichnet wird und etwa der carboxy-terminalen Hälfte des Fc -Stückes entspricht. Der Rest des Moleküls wird in kleinere, dialysierbare Peptide abgebaut. Die IgG-Subklassen zeigen gegenüber der Pepsinspaltung unterschiedliche Empfindlichkeit: IgG1 und IgG2 sind relativ resistent, während IgG3 und IgG4 stark sensibel sind.

P l a s m i n spaltet wie Pepsin das Molekül am N-terminalen Ende der Disulfidbrücken, welche die Schwereketten verbinden. Drei Spaltprodukte von annähernd gleicher Größe werden gebildet. Zwei identische, monovalente Fab-Fragmente und ein Fc -Fragment. Auch bei verlängerter Inkubationszeit erscheinen 30-40 % des IgG-Moleküls Plasminresistent. Die Resistenz der IgG-Subklassen gegenüber der Plasminspaltung ist unterschiedlich: IgG2 und IgG4 sind relativ resistent. Die intakte 7S-Komponente des mit Plasmin behandelten Präparates besteht hauptsächlich aus diesen beiden Subklassen und teilweise aus IgG1, während ein intaktes IgG3-Molekül selten gefunden wird.

Die Spaltung mit P a p a i n ergibt wie bei Plasmin zwei Fab- und ein Fc -Fragment. Papain trennt das Molekül am N-terminalen Ende der S-S-Brücken zwischen den Schwereketten auf. Für IgG1 ist das die Position 225-226. Die einzelnen IgG-Subklassen verhalten sich auch gegenüber diesem proteolytischen Enzym unterschiedlich. Moleküle der IgG3-Subklasse und die meisten IgG1-Proteine reagieren sehr empfindlich. Die Reihenfolge mit abnehmender Papainempfindlichkeit lautet:

IgG3 - IgG1 - IgG4 - IgG2.

Es lassen sich zwei Gruppen bilden, papainempfindliche und papainresistente. Man vermutet, daß sich diese Eigenschaften auf die unterschiedliche Molekularstruktur des Fc -Stücks zu-

rückführen lassen (41, 42). Untersuchungen von Jeffris et al. (42) und Gergely (43, 153) bestätigen dies. Gergely untersuchte 50 Myelomproteine, von welchen 23 % papainresistent waren. Bei 29 Proteinen wurde die Subklasse festgestellt. Es ergab sich folgender Zusammenhang:

	n	pap. sensibel	pap. resistent
IgG1	17	14	3
IgG2	4	0	4
IgG3	3	3	0
IgG4	5	0	5

Jedes der untersuchten IgG2- und IgG4-Proteine war papainresistent und alle IgG3-Proteine sensibel. Lediglich bei IgG1 konnten keine eindeutigen Verhältnisse festgestellt werden.

Diese Ergebnisse deuten auf einen Zusammenhang zwischen der Papainempfindlichkeit und der Schwarkettenstruktur der Subklasse hin, jedoch kann wegen der Heterogenität in der IgG1-Subklasse der mögliche Einfluß anderer Faktoren nicht ausgeschlossen werden.

2.3.5. Immunologische Eigenschaften

2.3.5.1. Komplementaktivierung

Unter dem Komplementsystem versteht man eine Gruppe von mindestens neun (C_1 - C_9) immunochemisch differenten, der Globulinfraktion zugehörigen Serumfraktionen. Es gewährleistet die Abwehrbereitschaft des Körpers mit Hilfe von Immunglobulinen und anderen zellulären Elementen gegenüber mikrobiellen Antigenen und Fremdzellen. Das Komplementsystem kann durch zwei verschiedene Wege aktiviert werden (46). Die Aktivierung nach dem klassischen Reaktionsmechanismus enthält die Komponenten 1-9, wobei die erste Komponente C_1 durch

Aggregate von IgM oder IgG aktiviert wird. Nach dem Schema 1-4-2-3-5-6-7-8-9 werden sukzessive die anderen Komponenten aus den inaktiven Vorläufern aktiviert, wobei eine aktive Komponente zur Aktivierung der nächsten Stufe dient. Geschieht die Reaktion an einer Zelloberfläche, so wird durch die Anlagerung der letzten Komponenten C_8+C_9 die Zellmembran geschädigt und es treten Zytolyse und Zelltod ein. Bei diesem System wird das Komplement durch IgG1, IgG2, IgG3 und IgM aktiviert (70). Dabei existieren offensichtlich Unterschiede zwischen den Subklassen in der Fähigkeit, Komplement zu aktivieren: IgG2 fixiert Komplement wesentlich schwächer als IgG1 und IgG3. IgG4 ist dazu überhaupt nicht in der Lage. Die Komplementbindungseigenschaften von IgM sind wesentlich effektiver als die von IgG (116). Komplexe der anderen Immunglobulinklassen IgA, IgD und IgE können keine klassischen Komponenten des Komplementsystems fixieren (61).

Neben dem klassischen Aktivierungsweg existiert noch eine **A l t e r n a t i v e** (46), die möglicherweise mit dem von Pillemer (117) beschriebenen Properdinsystem identisch ist. Das System enthält die klassischen Komponenten C3, 5, 6, 7, 8, 9. Hierbei wird die Aktivierung von C1 umgangen und C3 direkt aktiviert. Dieser C3-Aktivator entsteht seinerseits aus einer inaktiven Vorstufe (C3-Proaktivator) durch Einwirkung eines Enzyms, der C3-Proaktivatorkonvertase. Dabei sind die Subklassen IgG1, IgG2 und IgG3 in der Lage, dieses System zu aktivieren. IgG4 scheint in den meisten Fällen nicht dazu befähigt zu sein. Von den untersuchten IgG4-Proteinen war nur eines, mit dem Marker 4b, aktiv (78).

IgM ist nicht aktiv, wohl aber die beiden Subklassen von IgA, A1 und A2.

Beim Menschen erfolgt die Aktivierung des C3-Systems über eine auf dem Fc-Stück des Immunglobulines gelegene reaktive Stelle.

2.3.5.2. Rheumafaktoren

Unter einem Rheumafaktor versteht man einen Antikörper gegen das Fc-Fragment einer bestimmten Immunglobulinklasse oder Subklasse. Die Immunglobuline reagieren in diesem Fall als Antigen und als Antikörper (36). Die Rheumafaktoren gehören zum überwiegenden Teil der IgM-Klasse an, obwohl gelegentlich auch solche vom IgG- und IgA-Typ beobachtet worden sind (79). Das Auftreten der Rheumafaktoren ist nicht spezifisch für das Vorliegen einer progredient chronischen Polyarthrititis, sondern sie wurden ebenfalls bei Lebererkrankungen, Lues, Mononukleosis infektiosa, bakterieller Endokarditis, Sarkoidose, Tropenkrankheiten, Transplantatempfängern und sogar bei anscheinend gesunden Personen gefunden (5, 68, 113, 161, 80, 144, 67, 12, 72, 157).

In den meisten Fällen ist das IgG das Antigen für den Rheumafaktor. Vor den verschiedenen IgG-Subklassen reagieren IgG1-Moleküle sehr stark, IgG2 und IgG4 weniger stark. IgG3 zeigte keine Reaktion (38, 108).

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Normansell und Young (107a), sie fanden für die Subklassen IgG1, IgG2 und IgG4 eine Reaktion mit gleicher Bindungskonstante, während IgG3 nicht reagierte.

2.4. Klinische Bedeutung

2.4.1. IgG-Subklassen bei Lupus erythematoses

14 Patienten mit Lupus erythematoses disseminatus wurden auf die Subklassenzusammensetzung der antinukleären Antikörper untersucht (141). Dabei waren in allen Fällen die Subklassen IgG1 und IgG2 vertreten, während IgG3 in nur acht Fällen vorhanden war. IgG 4 trat in den Antikörpern nicht auf. Spätere Untersuchungen von Perutz et al. (114) an 26 Patienten

fanden in den meisten Fällen IgG1 und IgG3, bei zwei Patienten sogar nur IgG3, in einem Fall nur IgG2. Bei Patienten, deren antinukleäre Antikörper Komplement fixierten, herrschten die Subklassen IgG1 und IgG3 vor. Wurde kein Komplement fixiert, lagen vorwiegend die Subklassen IgG2 und IgG4 vor.

2.4.2. Immunglobuline bei chronischer, membranöser Glomerulonephritis

Bei der chronischen membranösen Glomerulonephritis ist das Gesamt-IgG erniedrigt. Untersuchungen von Thompson (139) ergaben jedoch für das IgG3 eine höhere Konzentration, obwohl das Gesamt-IgG erniedrigt war. Bei Patienten, bei denen zusätzlich das Komplement erniedrigt war, kam dies besonders deutlich zum Ausdruck. Eine mögliche Erklärung liegt darin, daß das IgG3 ein höheres Molekulargewicht hat als die übrigen Subklassen. Dies scheint auch die Untersuchung des Urins auf Immunglobuline bei diesen Patienten zu bestätigen; das durch die Nieren durchgetretene IgG war relativ IgG3 arm. Dies könnte auch durch eine proteolytische Spaltung dieser Moleküle bedingt sein. Außer einem renalen IgG1-, IgG2- und IgG4-Verlust ist auch an eine gesteigerte IgG3-Synthese im Sinne einer oligoklonalen Immunantwort auf ein Antigen zu denken.

2.4.3. IgG-Subklassenverteilung bei Antithyreoglobulinantikörpern

Autoantikörper gegen Thyreoglobulin bei Patienten mit Thyreoiditis Hashimoto existieren in den Klassen IgG, IgA und IgM. Die meisten der Antikörper stammten aus der IgG-Klasse, bis zu 20 % waren IgA-Moleküle und weniger als 1 % IgM-Moleküle.

Subklassenspezifische Untersuchungen wurden von Hay und Torrigiani (60a) vorgenommen. Nach einem von den Autoren entwickelten Verfahren wurde die Antigenbindungskapazität

in gebundenem Thyreoglobulin/ml-Serum gemessen. Die Mittelwerte aus allen Meßdaten ergaben für die einzelnen Subklassen folgende Bindungskapazitäten:

IgG1	:	8,42 mg/ml Serum	=	68 %
IgG2	:	2,34 mg/ml Serum	=	19 %
IgG3	:	0,9 mg/ml Serum	=	7 %
IgG4	:	0,71 mg/ml Serum	=	6 %

Die relative Verteilung der Antikörper in jeder Subklasse entspricht weitgehend der Subklassenverteilung im Normalserum.

2.4.4. IgG-Subklassen bei Patienten mit rheumatoider Arthritis

Shakib und Stanworth (126) untersuchten an 117 Patienten mit rheumat. Arthritis die Rheumafaktoraktivität im Serum und bei 28 Patienten zusätzlich in der Synovialflüssigkeit. Mit Hilfe eines Radioimmunoassays wurde die spezifische anti-IgG-Antikörperaktivität gemessen.

Zunächst wurden 50 Seren und 14 Synovialflüssigkeiten von seropositiven Patienten untersucht. Abnorm hohe Rheumafaktoraktivitäten wurden gegen folgende Subklassen im Serum gefunden:

IgG1	bei 31 Patienten	= 62 %
IgG2	13	= 26 %
IgG3	2	= 4 %
IgG4	24	= 48 %

Die Verteilung der Rheumafaktoraktivität entspricht dabei nicht der relativen Verteilung dieser Subklassen im Normalserum.

Bei den Messungen an den entsprechenden Synovialflüssigkeiten ergaben sich abweichende Werte von den dazugehörigen Werten im Serum.

IgG1	bei 14 Patienten	= 100 %
IgG2	10	71 %
IgG3	6	43 %
IgG4	14	100 %

Zusätzlich wurden 67 Seren und 14 Synovialflüssigkeiten von seronegativen Patienten untersucht. Man fand abnorm hohe Aktivitäten im Serum bei

IgG1	bei 3 Patienten	= 4 %
IgG2	11	16 %
IgG3	3	4 %
IgG4	2	3 %

Die Aktivitäten bei seronegativen Patienten liegen deutlich unter denen von seropositiven Patienten.

Die Untersuchung der Synovialflüssigkeiten bei 14 seronegativen Patienten ergab abnorm hohe Aktivitäten bei

IgG1	bei 13 Patienten	= 93 %
IgG2	14	100 %
IgG3	3	4 %
IgG4	2	3 %

Diese Arbeit zeigt, daß Rheumafaktoraktivität in allen vier IgG-Subklassen vorkommt, lediglich die Stärke der Immunantwort ist unterschiedlich in den einzelnen Subklassen.

Bei IgG3 ist sie signifikant schwächer als in den anderen Subklassen.

2.4.5. Diaplazentare Übertragung der Immunglobulin-subklassen

Die Übertragung von Immunglobulinen der Mutter auf den Fötus wird durch die Plazenta gehindert. Dies gilt allerdings nicht für IgG, welches die Plazenta möglicherweise über einen aktiven Transportmechanismus passieren kann (44, 101). Dieser Transportmechanismus betrifft alle vier Subklassen gleichmäßig. Untersuchungen von Wang und Hay (60, 160) ergaben für IgG2 geringere Konzentrationen in den Nabelschnurseren als in den mütterlichen Seren. Deshalb vermutete man, daß die Plazenta für IgG2 eine Barriere darstellt und die geringen, in der Nabelschnur gefundenen Konzentrationen vom Fötus selbst produziert wurden. Zur Klärung dieser Frage wurden Seren von Müttern und Kindern in den verschiedenen Entwicklungsstadien untersucht (100). Das führte zu folgendem Ergebnis: Die fetalen Seren in der 13. - 16. Schwangerschaftswoche enthalten nur geringe Mengen aller 4 IgG-Subklassen. Anschließend tritt ein deutlicher Anstieg ein und ab der 33. Schwangerschaftswoche sind die Konzentrationen in der Seren zwischen Mutter und Kind etwa gleich. Diese sind auch dann gleich, wenn die Mutter an einer Hyper- oder Hypogammaglobulinämie leidet (8, 166). Um die Frage des Durchtritts von IgG2 durch die Plazenta noch weiter zu klären, wurden Titerbestimmungen von Gm23, dem nur auf IgG2 lokalisierten Gm-Faktor, vorgenommen. Hierbei ergab sich kein Anhaltspunkt für einen behinderten Durchtritt durch die Plazenta. Ein Zufallsbefund von Virella et al. bestätigt dies (155, 156). Sie fanden bei einer Gravida im 6. Schwangerschaftsmonat eine monoklonale IgG2-Gammopathie, dabei war im Nabelschnurblut das monoklonale IgG2 in derselben Konzentration wie im mütterlichen Serum vorhanden.

2.5. Methoden zur Subklassenbestimmung

2.5.1. Bestimmung der Subklassen mit der Ouchterlony Doppeldiffusionstechnik

Grundlagen der Methode

Das Prinzip der Methode ist bei Ouchterlony (110) beschrieben und kann in dieser Weise durchgeführt werden.

Zur Subklassenbestimmung werden die verdünnten Seren mit gepooltem Normalserum unter gleichen Bedingungen verglichen. In einigen Fällen erzielt man mit der Ouchterlony Doppeldiffusionstechnik keine eindeutigen Ergebnisse. In diesen Fällen müssen die Subklassen immunoelektrophoretisch mit subklassenspezifischen Antiseren bestimmt werden.

Durchführung der Methode

Wegen der geringeren Spezifität der Antiseren ist im Gegensatz zur üblichen Methodik eine Stanze mit veränderten Maßen erforderlich. Bei einem sechseckigen System beträgt der Durchmesser des zentralen Lochs 3 mm, derjenige der peripheren Löcher 1,8 mm und der Abstand der Löcher voneinander 1,2 mm.

In der Mitte trägt man das subklassenspezifische Antiserum auf und in den peripheren Löchern das Serum in einer Verdünnung von 1/8 bis 1/128. Nach 24 Stunden Diffusionszeit werden die Platten gewaschen und mit Amidoschwarz gefärbt.

Im speziellen Fall der Differenzierung von Myelomseren werden in einem ersten Schritt der Seren elektrophoretisch analysiert, um die Konzentration und den Anteil der normalen Immunglobuline abschätzen zu können. Zugleich ist ein eventuell doppelter M-Gradient zu erkennen.

2.5.2. Immunelektrophorese

Die Immunelektrophorese stellt eine Kombination von Elektrophorese und Immunpräzipitation dar. Nach elektrophoretischer Auftrennung der Proteine werden die einzelnen Komponenten durch Immunpräzipitation sichtbar gemacht.

Prinzip und Methodik werden unter Punkt 3.1.1. bei den eigenen Untersuchungen beschrieben.

2.5.3. Bestimmung der Subklassen durch enzymatische Spaltung

Grundlagen der Methode

Durch Verdauung mit Pepsin lassen sich die IgG-Moleküle ähnlich wie bei der Papainverdauung in eine pepsinempfindliche und eine pepsinresistente Gruppe einteilen (147, 48). Nach der Behandlung mit Pepsin erhält man ein größeres, bivalentes $F(ab')_2$ -Fragment mit einem Molekulargewicht von etwa 106000, welches beide Antigenbindungsstellen enthält und ein kleineres Fragment mit einem Molekulargewicht von ca. 26000, das mit pFc' bezeichnet wird und etwa der carboxyterminalen Hälfte des Fc -Stückes entspricht. Der Rest des Moleküls wird in kleinere, dialysierbare Peptide abgebaut. Diese unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber Pepsin ist die Grundlage der Methode von Turner, Bennich und Natvig (146) zur Subklassenbestimmung.

Durchführung der Methode

Die Seren werden in zwei Schritten durch "Pevikan" Blockelektrophorese und Chromatographie auf DEAE Cellulose isoliert. Anschließend werden 1,5 %ige Lösungen des Proteins hergestellt, mit 0,1 M Azetat Puffer pH 4,5 versetzt und die Proteolyse eingeleitet. Als Enzym nimmt man zweifach rekristallisiertes Pepsin in einer Verdünnung von 1 : 100. Nach 0,2, 6, 10, 24 h

werden je 100 Mikroliter des Gemischs entnommen und mit Tris-Puffer versetzt, bis ein pH von 8 erreicht ist. Das Stadium der Verdauung als Funktion der Zeit wird durch die Stärkegelelektrophorese bei pH 3,0 mit einem pFc-Fragment als Markierung überprüft. Dabei ergibt sich folgender Zusammenhang:

- IgG1: Das pFc-Fragment des gespaltenen Myelom-Proteins ist in allen Proben zu jedem Zeitpunkt enthalten.
- IgG2: Das pFc-Fragment ist in den Proben nach 2,6 und 10 h enthalten, nicht mehr aber nach 24 h.
- IgG3: Das pFc-Fragment ist nur noch nach 2 und 6 h enthalten, nicht mehr nach 10 und 24 h.
- IgG4: Zu keinem Zeitpunkt findet man ein pFc-Fragment.

2.5.4. Bestimmung der Subklassen durch Autoradiographie

Grundlagen der Methode

Das Studium der Disulfidbrücken zwischen den Schwerketten von Myelomproteinen ergab große Unterschiede in der Primärstruktur. Diese Unterschiede sind typisch für die einzelnen Subklassen und lassen sich für ein chemisches Verfahren zur Subklassentypisierung ausnutzen (33). Durch Markierung mit einer geeigneten radioaktiven Substanz und elektrophoretischer Auftrennung ergeben sich für die Subklassen typische Muster.

Durchführung der Methode

Bei diesem Verfahren werden die Seren zunächst durch Stärkegelelektrophorese isoliert, in 0,5 ml tris HCl Puffer (0,5M pH 8,2) gelöst und mit 10 Mikroliter einer frischen Dithiothreitol (0,65mM) reduziert. Nach 90 Min. Inkubationszeit bei 37°C werden 20 Mikroliter einer Stammlösung von C¹⁴ Iodoazetat (0,1M 750000 cpm/Mikromol) hinzugefügt und bei Raumtemperatur weitere 90 Min. inkubiert. Anschließend wird die Lösung in

einem Dialyseschlauch gegen eine 5 %ige Ameisensäure dialysiert. Die Pepsinverdauung (25 Mikroliter einer 10 mg/ml Lösung, Enzym/Substrat 1:20) wird bei 37°C 14 Stunden lang durchgeführt. Nach Gefriertrocknung und anschließendem Lösen in 15 %igem Ammoniumbikarbonat pH 8,0 wird 4-8 Stunden mit Trypsin verdaut (10 Mikroliter, 10 mg/ml). Die Lösung wird getrocknet, in 0,1 ml Wasser gelöst und auf 3 MM Whatmanpapier aufgetragen.

Als Markierung wird eine Mischung von Glutaminsäure, Glycylalanin und Epsilon-DNP lysin an der Seite aufgetragen. Anschließend wird die Elektrophorese bei pH 3,5 (1 h, 60 V) durchgeführt. Peptide, welche Carboxymethylcystein enthalten, können autoradiographisch entdeckt werden. Die Myelomproteine der einzelnen Subklassen ergeben spezifische autoradiographische Muster, die von den Peptiden der Inter-Disulfidbrücken stammen.

Zusätzlich zu den Subklassen lassen sich mit diesem Verfahren auch noch die Leichtketten-Untergruppen Kappa und Lambda im gleichen Ansatz bestimmen.

2.5.5. Subklassenbestimmung durch isoelektrische Fokussierung

Grundlagen der Methode

Die elektrische Ladung eines Proteins variiert mit der Position im pH-Gradienten und für jedes Protein existiert ein charakteristischer pH-Wert (der isoelektrische Punkt) bei dem die Nettoladung des Moleküls Null ist. Legt man ein elektrisches Feld von konstanter Intensität an den pH-Gradienten, so werden die Proteine um den isoelektrischen Punkt fokussiert.

Die Möglichkeit der isoelektrischen Fokussierung zur Isolierung von reinen Myelomproteinen oder Bence-Johnes-Proteinen wurde von mehreren Autoren gezeigt.

Untersuchungen von Howard und Virella (67a) zeigten, daß sich bei menschlichem IgG eine teilweise Trennung in die einzelnen Subklassen erzielen läßt. Man findet eine Anreicherung von IgG2 in der pH 7,0 Region, während IgG3 in der Region pH 8,2-9,0 gefunden wird. IgG4 fand man nur in einem pH-Bereich unter 6,0. Die Subklasse IgG1 wird in einem weiten pH-Bereich fokussiert und ist die einzige Subklasse, die im Bereich über pH 9 gefunden wurde.

Durchführung der Methode

Eine genaue Beschreibung der Methode liegt im Handbook of Experimental Immunology vor (58a).

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Untersuchungsmethoden

3.1.1. Immunelektrophorese

Grundlagen der Methode

Die Immunelektrophorese ist ein wichtiges diagnostisches Verfahren zur Erkennung und Differenzierung von Paraproteinämieformen (48, 49). Durch die Entwicklung von hochspezifischen, monovalenten Antiseren ist die Aussagekraft dieser Methode so groß, daß man zur Erkennung monoklonaler Immunglobulinämien auf weitere Verfahren verzichten kann.

Die Immunelektrophorese stellt eine Kombination von Elektrophorese und Immunpräzipitation dar. Die zu untersuchende Proteinlösung wird in einem Agargel elektrophoretisch aufgetrennt, anschließend werden die einzelnen Komponenten durch Immunpräzipitation mit Hilfe eines Immunserums sichtbar gemacht. Dabei reagiert jedes Antigen mit seinem Antikörper und bildet ein Präzipitat. Die Summe der Präzipitate bildet eine Linie an der Stelle, an der sich Antigen und Antikörper im gleichen Verhältnis befinden. Sie hat einen mehr oder weniger bogenförmigen Verlauf. Die Krümmung ist umso stärker, je einheitlicher die elektrophoretische Beweglichkeit der einzelnen Moleküle ist. Für die Lage, Form und Intensität einer Linie spielen die elektrophoretische Mobilität des Proteins, seine Konzentration sowie seine Antigen-Antikörper-Relation eine entscheidende Rolle.

Die IgG-Globuline, die den Hauptteil der Immunglobuline darstellen, bilden wegen ihrer elektrophoretischen Heterogenität eine sehr lange Präzipitationslinie, die vom langsamsten Gamma- bis zum Alpha-2-Bereich zieht. Sie ist in ihrem kathodischen Bereich breiter und dichter, in ihrem anodischen Bereich schwächer ausgebildet.

Die IgA-Linie im Beta-2-Bereich hat eine leicht symmetrisch gebogene Form. Sie kreuzt die anodische Hälfte der IgG-Linie, während sie kathodisch mit der IgM-Linie auf gleicher Höhe endet.

Die für Paraproteine charakteristische Veränderung, wie vermehrte Bogenbildung, Ausbuchtung, umschriebene Verdichtung und Überschußphänomen sind Ausdruck der Vermehrung elektrophoretisch einheitlicher Immunglobuline. Sie sind nicht auf eine abnorme Struktur zurückzuführen.

Bei IgG-Paraproteinämien zeigt die IgG-Linie eine pathologische Deformierung, eine umschriebene Verdichtung und eine partielle Auflösung oder Gabelung. Der nichtgekrümmte Anteil ist abgeschwächt und verkürzt und hat meist einen vergrößerten Abstand zur Antikörperrille (30).

Bei den IgA-Paraproteinämien ist entsprechend die IgA-Präzipitationslinie stark verdichtet und zeigt eine pathologische Bogenkrümmung sowie oft noch eine anodische oder kathodische Verschiebung.

Die Bestimmung der Subklasse der Paraproteine wird mit Hilfe subklassenspezifischer Antiseren durchgeführt. Dabei läßt sich anhand der pathologischen Deformierung die Paraproteinsubklasse erkennen.

Durchführung der Methode

a) Elektrophoretische Trennung

Es wurde eine Immunelektrophoreseapparatur der Firma Boscamp verwendet. Die immunelektrophoretische Trennung erfolgte bei konstanter Stromstärke, bei 60 Volt Spannung und einer Laufzeit von 30 min. Als Puffer wurde ein Veronal-Natrium und Natriumazetat-Puffer (pH 8,6 μ 0,05) verwendet).

b) Präzipitation

Die Antiseren stellte die Firma Nordic, für

IgG: Spezifisches Antiserum vom Schwein SwAHu IgG1 - 4

IgA: RAHu IgA1 - 2

Es konnten nicht mit allen Präparationen der Antiseren befriedigende Ergebnisse erzielt werden, deshalb wurden in Vorversuchung die einzelnen Chargen gegen säulenchromatographisch reines Immunglobulin getestet.

3.1.2. Säulenchromatographie

Die Isolierung der IgG- und IgA-Myelomproteine wurde mittels Gradientenelutionschromatographie durchgeführt (115). Bei diesem Verfahren besitzt das Molekül nach der Trennung noch eine unveränderte immunologische und elektrophoretische Eigenschaft und zeigt in seiner Sedimentationskonstanten und seinem Kohlenwasserstoffanteil keinerlei Abweichungen.

Grundlagen der Methode:

Man arbeitet mit einem Eluens, dessen Ionen gegenüber den zu untersuchenden Ionen eine geringere Affinität zu dem Absorbens besitzen. Die Ionen des Eluens überholen somit die an der Säulenfüllung adsorbierten Ionen des Gemischs. Durch ständiges Nachfließen neuen Eluens werden trotzdem die adsorbierten Ionen des Gemisches von denen des Serums ersetzt, je nach dem Grad ihrer Selektivität. Durch konstante Änderung der Konzentration und des pH des Eluens wird auch die eluierende Kraft ständig erhöht. Durch dieses Verfahren lassen sich schärfere Trennungen erreichen als bei der einfachen Säulenchromatographie. Ein angeschlossenes Photometer mißt ständig die Transmission. Auf diese Weise lassen sich die gesammelten Fraktionen der Transmissionskurve zuordnen.

Durchführung

Eine Chromatographiesäule der Größe 1, 6 x 40 cm, wird unter Druck mit DEAE-Cellulose gepackt und das Serum aufgetragen (111a, 111b). Nachdem die Probe in die Packung eingesickert ist, wird mit Tris-HCl-Puffer nachgewaschen. Anschließend wird die Säule mit einem Gradientenmischer der Firma LKB verbunden und mit der Elution begonnen. Der Gradientenmischer beginnt mit einem Tris-HCl-Puffer pH 8, 0,05 m und mischt in linearem Verhältnis einen weiteren Tris-HCl-Puffer pH 4,5 0,5 m dazu. Dabei sinkt der pH innerhalb von 24 h von 8 auf 4,5, gleichzeitig steigt die Molarität von 0,05 auf 0,5.

Jeweils acht auf diese Weise isolierte IgG und IgA-Myelomproteine wurden immunelektrophoretisch untersucht und mit dem nichtgereinigten Vollserum verglichen. Diese Versuche zeigten, daß das immunelektrophoretische Bild der gereinigten Fraktionen nicht aussagekräftiger ist. Deshalb wurde für die weiteren Untersuchungen auf die Vortrennung verzichtet und ausschließlich Vollserum verwendet.

Dabei wurden nur folgende Chargennummern verwendet:

für IgG: 18-575 (Nordic)

für IgA: 7-975 (Nordic)

Es wurden jeweils vier Verdünnungen angesetzt zwischen 1:5 und 1:20, in einigen Fällen wurde 1:50 verdünnt.

Die Abb. 5 und 6 zeigen Beispiele für die immunelektrophoretische Darstellung der Subklassen IgG1 bis IgG4.

IgG1 -

IgG1 -

IgG1 -

IgG2 -

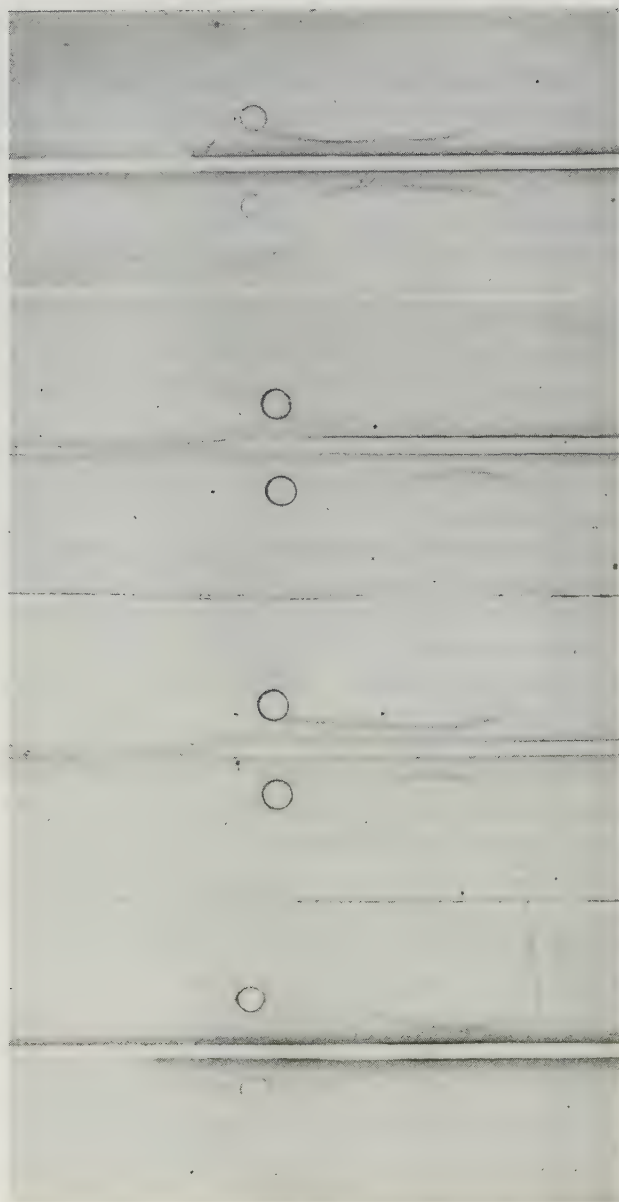


Abb. 5

Beispiele für die immunoelektrophoretische Darstellung der IgG-Subklassen.

IgG2 -

IgG3 -

IgG3 -

IgG4 -

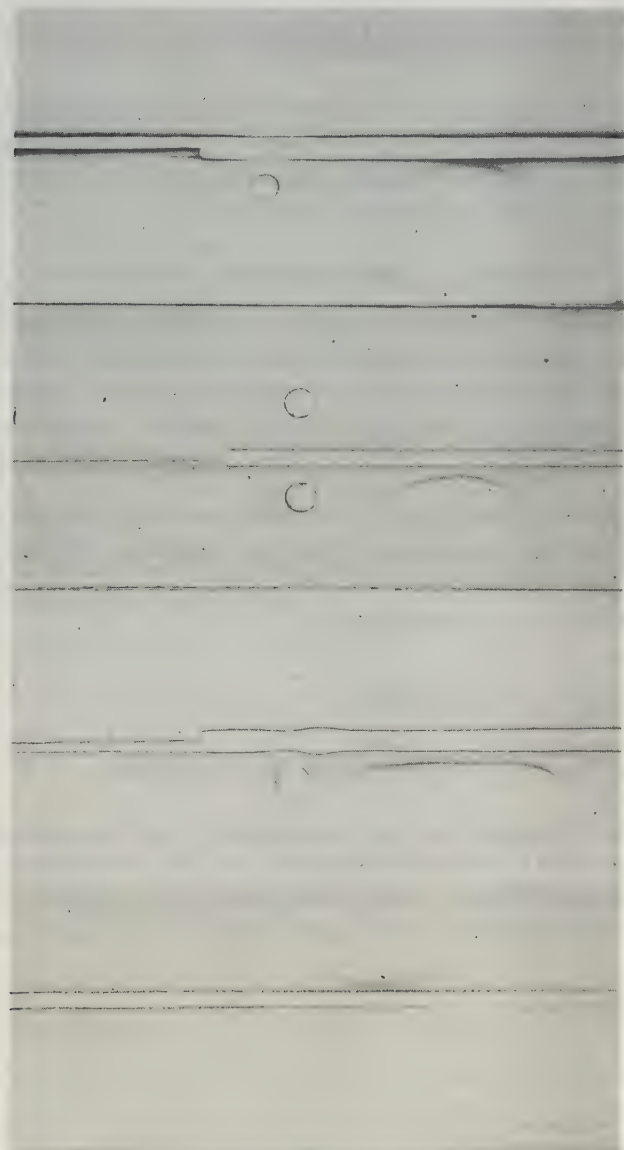


Abb. 6

Beispiele für die immunoelektrophoretische Darstellung der IgG-Subklassen.

3.2. Untersuchungsgut

Die Untersuchungen erstreckten sich auf 455 Patienten mit Paraproteinämien. Der Zeitraum der Erkrankung liegt zwischen 1960 und 1977. Die Seren waren eingefroren und bei -7°C gelagert.

Das Einzugsgebiet ist München und Umgebung.

329 dieser Patienten hatten eine IgG-Paraproteinämie und 126 eine IgA-Paraproteinämie. Von den Patienten mit einer IgG-Paraproteinämie waren 128 männlichen und 96 weiblichen Geschlechts. Bei den IgA-Paraproteinämien 43 männlich und 54 weiblich.

Wegen der nicht immer vollständigen Eintragungen in die Krankenblätter treten bei einzelnen Parametern teilweise abweichende Gesamtzahlen auf, die nicht mit der Zahl der untersuchten Seren übereinstimmt.

3.3. Ergebnisse

3.3.1. Verteilung der IgG-Subklassen

Die Verteilung der IgG-Subklassen unter Paraproteinämien zeigt Tabelle 1. Die IgG1-Subklasse ist wie im Normalserum auch bei den monoklonalen Paraproteinämien am häufigsten vertreten. Es folgen IgG2 mit 7,9 %, IgG3 mit 4,6 % und IgG4 mit 2,7 %.

Tabelle 1:

	n	rel. %
IgG1	279	84,4
IgG2	26	7,9
IgG3	15	4,6
IgG4	9	2,7
Summe	329	

3.3.1.1.2. Geschlechtsverteilung

Bei der Geschlechtsverteilung von Paraproteinämien ergibt sich eine leichte Häufigkeitsverschiebung zugunsten des männlichen Geschlechts (Tabelle 3). Das bezieht sich in erster Linie auf IgG1 und IgG2, bei IgG3 sind die Verhältnisse etwa ausgeglichen.

Lediglich bei IgG4 sind die Frauen fünfmal häufiger betroffen als die Männer. Dabei muß man jedoch die geringe Untersuchungszahl von n = 6 berücksichtigen.

Tabelle 3:

	männlich	weiblich	n	männl./weibl.
IgG1	115	89	204	1,3 : 1
IgG2	11	7	18	1,6 : 1
IgG3	4	5	9	0,8 : 1
IgG4	1	5	6	0,2 : 1

3.3.1.2.2. Albuminkonzentration

Eine Hypoalbuminämie von unter 4,2 g % trat bei IgG1 in 85,2 % der Fälle auf, bei IgG2 in 94,5 und bei IgG3 und IgG4 in 100 % der Fälle. In 1/3 der Fälle von IgG3 Paraproteinämien lag eine Hypalbuminämie unter 2,4 g % vor.

Tabelle 5:

	2,4	2,4-3	3-3,6	3,6-4,2	4,2-4,8	4,8
IgG1	13	27	57	57	22	5
rel. %	7,2	15	31,6	31,6	12,4	2,4
IgG2	2	2	7	6	1	0
rel. %	11	11	39,5	33	5,5	0
IgG3	3	3	2	1	0	0
rel. %	33,3	33,3	22,2	11,2	0	0
IgG4	1	1	1	2	0	0
rel. %	20	20	20	40	0	0

3.3.1.2.3. Alpha1-Konzentration

77,5 % der Werte für IgG1 lagen im Bereich zwischen 2 und 5,9 %, bei IgG2 und IgG4 waren es 100 % und bei IgG3 50 %.

Tabelle 6:

	2	2-3,9	4-5,9	6	n
IgG1	2	89	81	47	219
rel. %	1	40,5	37	21,5	
IgG2	0	9	9	0	18
rel. %	0	50	50	0	
IgG3	0	3	5	2	10
rel. %	0	30	50	20	
IgG4	0	3	3	0	6
rel. %	0	50	50	0	
					253

3.3.1.2.3. Alpha2-Konzentration

Unabhängig von der Subklasse der Paraproteine lag die Alpha2-Konzentration bei etwa der Hälfte der Patienten über 8 %. Bei 20 - 30 % der Patienten ergaben sich Werte zwischen 6 und 7,9 %.

Tabelle 7:

	4	4-5,9	6-7,9	8-9,9	10	n
IgG1	2	21	71	52	73	219
rel. %	1	10	32,5	24	33,5	
IgG2	1	5	3	4	5	18
rel. %	5,5	28	16,5	22	28	
IgG3	0	2	2	1	5	10
rel. %	0	20	20	10	50	
IgG4	0	3	0	0	3	6
rel. %	0	50	0	0	50	

3.3.1.2.5. M-Gradient

3.3.1.2.5.1. Elektrophoretische Mobilität des M-Gradienten

Tabelle 8:

	Beta	Beta1	Beta2	Gamma	Gamma1	Gamma2	unklar
IgG1	7	0	5	90	49	13	13
rel. %	4,3	0	3	55	29,9	7,8	
IgG2	4	0	0	7	4	3	0
rel. %	22	0	0	39	22	17	0
IgG3	0	0	0	5	2	2	0
rel. %	0	0	0	55	22,5	22,5	0
IgG4	1	0	0	2	1	0	0
rel. %	25	0	0	50	25	0	0

3.3.1.2.5.2. Konzentration des M-Gradienten (g/dl)

Die Paraproteinkonzentrationen lagen bei 79 % der IgG1-Patienten im Bereich zwischen 1,1 und 4 g/dl, bei IgG2 waren es 67 %, bei IgG3 100 % und bei IgG4 60 %.

Tabelle 9:

	0,4	0,41-1	1,1-2	2,1-4	4,1-6	6,1-8	8,1-10
IgG1	1	10	67	59	13	9	1
rel. %	0,6	6,2	42	37	8,1	5,5	0,6
IgG2	0	2	7	5	3	1	0
rel. %	0	11	39	28	16,5	5,5	0
IgG3	0	0	5	3	0	0	0
rel. %							
IgG4	0	2	0	3	0	0	0
rel. %							

3.3.1.2.6. Leichtkettentyp

Die Verteilung der beiden Leichtketten Kappa und Lambda, bezogen auf die IgG-Subklassen, entspricht für IgG 1 und IgG2-Paraproteinämien der im Normalserum. Bei IgG3 ergab sich ein Verhältnis von 2 : 1 gegenüber 1 : 1 im Normalserum und bei IgG4 ein Verhältnis von 1 : 1 gegenüber 3 : 1.

Tabelle 10:

	Kappa	Lambda	n	Kappa/Lambda
IgG1	132	69	201	1,9 : 1
IgG2	8	9	17	0,9 : 1
IgG3	6	3	9	2 : 1
IgG4	3	3	6	1 : 1

3.3.1.3. Beziehung zu hämatologischen Parametern

3.3.1.3.1. BKS

Eine Erhöhung der BKS von über 60 mm/1.Stunde trat bei IgG1 in 43,3 % der Fälle ein, bei IgG2 in 45 % und bei IgG4 in 66,6 %.

Bei IgG3 hatten 83,4 % der Patienten eine Senkung über 60 mm. Dabei lagen immer noch 2/3 über 90 mm und 1/3 über 120 mm.

Tabelle 11:

	10	10-29	30-59	60-89	90-119	120-149	150
IgG1	8	28	23	12	13	17	3
rel. %	7,7	27	22	11,5	12,5	16,4	2,9
IgG2	1	3	2	2	0	3	0
rel. %	9,0	27,3	18,2	18,2	0	27,3	0
IgG3	0	1	0	1	2	1	1
rel. %							
IgG4	0	1	0	1	1	0	0
rel. %							

3.3.1.3.2. Erythrozyten

Erythrozytenzahlen unter 4 Millionen fanden sich bei IgG1 in 41,5 % der Fälle, bei IgG2 in 44,4 %. Wegen der geringen Fallzahl ist jedoch bei IgG2, IgG3 und IgG4 keine signifikante Aussage möglich.

Tabelle 12:

	2	2-2,9	3-3,9	4-4,9	5-5,9	6
IgG1	1	9	27	44	6	2
rel. %	1,1	10,1	30,3	49,9	6,9	2,2
IgG2	0	2	2	4	1	0
rel. %	0	22,2	22,2	44,4	11,2	0
IgG3	0	0	1	2	2	0
rel. %						0
IgG4	0	1	1	0	0	0
rel. %						

3.3.1.3.3. Leukozyten

Leukozytenzahlen unter 8000 ergaben sich für IgG1 in 86,4 % der Fälle, bei IgG2 waren es 62,5 %.

Für IgG3 und IgG4 sind die Untersuchungszahlen zu gering um eine sichere Aussage machen zu können.

Tabelle 13:

	2	2-3,9	4-5,9	6-7,9	8-9,9	10
IgG1	1	11	28	28	9	12
rel. %	1,1	12,4	31,4	31,4	10,1	13,6
IgG2	0	1	2	2	2	1
rel. %	0	12,5	25	25	25	12,5
IgG3	0	3	2	0	1	0
rel. %						
IgG4	0	0	1	0	0	0

3.3.2. Verteilung der Subklassen bei IgA-Myelomen

Die monoklonalen IgA-Paraproteinämien waren in 98,5 % der IgA1-Subklasse zuzuordnen. Zwei Patienten (1,5 %) hatten eine IgA2-Paraproteinämie.

Tabelle 14:

	n	rel. %
IgA1	126	98,5
IgA2	2	1,5
Summe	128	

3.3.2.1. Beziehung zu epidemiologischen Parametern

3.3.2.1.1. Alter

Die Altersverteilung der Patienten mit monoklonalen IgA-Paraproteinämien zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ergab ein ähnliches Bild wie bei IgG. Etwa 80 % aller Erkrankungen begannen nach dem 50. Lebensjahr. Der Erkrankungsgipfel lag zwischen dem 60. und 80. Lebensjahr.

Tabelle 15:

	30-39	40-49	50-59	60-69	>70	n
IgG1	6	8	13	18	18	63
rel. %	9,5	12,7	20,6	28,6	28,6	
IgG2					2	
rel. %.					100	

3.3.2.1.2. Geschlecht

Die Prüfung der Geschlechtsverteilung der IgA-Paraproteinämien ergab eine leichte Bevorzugung des weiblichen Geschlechts bei IgA1.

Tabelle 16:

männlich	weiblich	n	männl./weibl.
42	53	95	1 : 1,3
44,2	55,8		
1	1	<u>2</u>	1 : 1
50	50	97	

3.3.2.2. Beziehung zu proteinchemischen Parametern

3.3.2.2.1. Gesamteiweiß

Eine Hyperparaproteinämie ist eine der häufigsten Eiweißveränderungen bei Paraproteinämien. Bei IgA1 traten in über 90 % der Fälle Eiweißkonzentrationen über 6 g/dl auf, davon etwa 60 % im Bereich zwischen 6 und 8 g/dl und 30 % über 8 g/dl. Die beiden IgA2-Patienten hatten ebenfalls ein leicht erhöhtes Gesamteiweiß.

Tabelle 17:

	6	6-7,9	8-9,9	10-11,9	n
IgA1	8	49	22	4	83
rel. %	9,6	59,1	26,6	4,8	
IgA2		1	1		2
rel. %		50	50		85

3.3.2.2.2. Albuminkonzentration

Die Albuminkonzentration bei etwa 75 % der Fälle mit IgA1-Paraproteinämien war unter 54 %, die Hälfte aller Werte im Bereich zwischen 45 % und 54 %.

Die beiden Patienten mit IgA2-Myelomen hatten einmal Werte unter 35 % und zum anderen im Bereich zwischen 55 und 64 %.

Tabelle 18:

	<35	35-40	45-54	55-64	n
IgA1	10	15	46	21	92
rel. %	10,8	16,4	50	22,8	
IgA2	1			1	<u>2</u>
rel. %	50			50	94

3.3.2.2.3. Alpha1-Konzentration

Für die Alpha1-Fractionen waren die Abweichungen von den elektrophoretischen Referenzwerten wenig ausgeprägt. Etwa 80 % der Patienten zeigten Werte zwischen 2 und 5,9 %, 40 % zwischen 2 und 3,9 % und 36 % zwischen 4 und 5,9 %.

Die Werte für die Patienten mit IgA2-Myelomen waren zwischen 2 und 3,9 %.

Tabelle 19:

	< 2	2-3,9	4-5,9	< 6	n
IgA1	11	37	34	10	92
rel. %	11,9	40,4	36,9	10,8	
IgA2		2			2
rel. %		100			94

3.3.2.2.4. Alpha2-Konzentration

Bei IgA1 lagen mit 43 % fast die Hälfte der Fälle zwischen 7 und 9,9 %. Bei 31 Patienten (33,8 %) wurden Konzentrationen über 10 % gemessen.

Tabelle 20:

	< 4,9	5-6,9	7-9,9	10-12	< 12	n
IgA1	6	15	40	16	15	92
rel. %	6,5	16,4	43,3	17,4	16,4	
IgA2		1	1			2
rel. %		50	50			94

3.3.2.2.5. Leichtkettentyp

Die Bestimmung der leichten Ketten ergab für IgA1 ein leichtes Überwiegen von Lambda.

Tabelle 21:

	Kappa	Lambda	n	Kappa/Lambda
IgA1	33	42	75	1 : 1,3
rel. %	44	56		
IgG2	1	1	2	1 : 1
rel. %	50	50	77	

3.3.2.3.6. M-Gradient

3.3.2.3.6.1 Mobilität

Die Mobilität des M-Gradienten zeigt Tabelle 22.

Tabelle 22:

	Alpha2	Beta	Beta1	Beta2	Gamma	Gamma1	Gamma2	nicht bek.	n
IgA1	1	10	1	9	2	2	0	14	42
rel. %	2,5	32	2,5	21	5	5	0	33	
IgA2		1							1
rel. %		100					Summe		43

3.3.2.3.6.2. Konzentration

Die Messung der Konzentrationen der Paraproteine ergab für IgA1 zu 49 % Werte zwischen 2 und 3,9 g/dl, zu 32 % Werte zwischen 1 und 1,9 g/dl.

Tabelle 23:

	0,4-0,9	1-1,9	2-3,9	4-5,9	n
IgA1	4	15	23	5	47
rel. %	8,5	32	49	10,5	
IgA2				1	<u>1</u>
				Summe	48

3.3.2.3.2. Erythrozyten

Erythrozytenzahlen unter 4 Millionen fanden sich bei den IgA1-Paraproteinämien in 45 % der Fälle.

Tabelle 25:

	2	2-2,9	3-3,9	4-4,9	5-5,9	n
IgA1	1	2	6	11	0	20
rel. %	5	10	30	55	0	
IgA2			1			1
rel. %			100			21

3.3.2.3.3. Leukozyten

Leukozytenzahlen unter 8000 traten in 75,8 % der Fälle mit IgA1-Paraproteinämien auf, davon waren immer noch etwa 60 % unter 5900.

Tabelle 26:

	2-3,9	4-5,9	6-7,9	8-9,9	10
IgA1	6	12	4	3	4
rel. %	20,6	41,4	13,8	10,4	13,8
IgA2	1				

4. Diskussion

4.1. Methodik

Die Subklassentypisierung wurde mit Hilfe der Immunelektrophorese durchgeführt. Wegen der hohen Aussagekraft und des relativ geringen Aufwandes kann dieses Verfahren als optimal angesehen werden. Es ist außerdem das einzige Verfahren, bei dem man zwischen Paraproteinämien und physiologischen Erhöhungen von Immunglobulinen anhand der Deformierung der Präzipitate unterscheiden kann.

Das Hauptproblem dieser Methode ist die schwere Verfügbarkeit spezifischer Antiseren. Von den getesteten Chargen der Herstellerfirma war nur eine brauchbar, außerdem war dieselbe Herstellerfirma nicht in der Lage, zu einem späteren Zeitpunkt brauchbare Antiseren zur Verfügung zu stellen.

Von den anderen zur Diskussion stehenden Möglichkeiten ist das autoradiographische Verfahren apparativ sehr aufwendig und kostspielig. Die Methode, bei der die Immunglobuline enzymatisch gespalten werden, ist bei großen Untersuchungszahlen organisatorisch sehr schwierig durchzuführen. Bei dem Verfahren mit Hilfe der Ouchterlony Doppeldiffusionstechnik kann nicht in allen Fällen eine hinreichende Genauigkeit erzielt werden, so daß zur Klärung dieser Fälle eine andere Methode hinzugezogen werden muß. Letztlich kann man die Subklassen noch mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung bestimmen, da sich jedoch die Trennungsbereiche der einzelnen Subklassen in einem großen Bereich überlappen, ist eine eindeutige Zuordnung zu einer bestimmten Subklasse nicht immer möglich.

4.2. Ergebnisse

Bei allen in dieser Arbeit mitgeteilten Fällen war die Diagnose einer Paraproteinämie immunoelektrophoretisch gesichert. Es wurden 455 Patienten aller Altersklassen mit Paraproteinämien auf ihre Subklassenspezifität untersucht, deren klinische, proteinchemische und hämatologische Parameter ausführlich bei Fateh (30) beschrieben wurden.

4.2.1. IgG

4.2.1.1. Verteilung der Subklassen

Die Subklassentypisierung der Paraproteinämien des IgG-Typs ergab folgendes Ergebnis:

IgG1 : 84,4 %, IgG2 : 7,9 %, IgG3 : 4,6 %, IgG4 : 2,7 %.

Verglichen mit Untersuchungen anderer Autoren (4, 128, 138, 151) ergeben sich im Wesentlichen übereinstimmende Ergebnisse. Den Zusammenhang zeigt Tabelle 27.

Die eigenen Untersuchungen unterscheiden sich nur durch das seltenere Auftreten der IgG2-Subklassen zugunsten der IgG1-Subklasse.

Bei IgG4 unterscheiden sich die Ergebnisse aller Autoren sehr stark. Dies ist jedoch mit großer Sicherheit auf die jeweils geringe Fallzahl in dieser Subklasse zurückzuführen.

Unter Berücksichtigung aller in der Literatur auf die Subklassenspezifität differenzierten Patienten mit Paraproteinämien (n = 1282) ergibt sich folgende Verteilung:

IgG1 : 80,2 %, IgG2 : 10,8 %, IgG3 : 5,8 %, IgG4 : 3,2 %.

Es wurde die Frage aufgeworfen, ob bei den Paraproteinämien eine der Subklassen bevorzugt wird. Vergleicht man die Ergebnisse mit der relativen Verteilung der Subklassen im Normal-

serum, so kann man feststellen, daß beide Verteilungen in etwa übereinstimmen. Die Zahl der IgG1-Paraproteinämien liegt um 5,2 % höher, wobei die Zahl der IgG2-Paraproteinämien um 4,2 % niedriger liegt. Abb. 7 zeigt die Verhältnisse graphisch dargestellt.

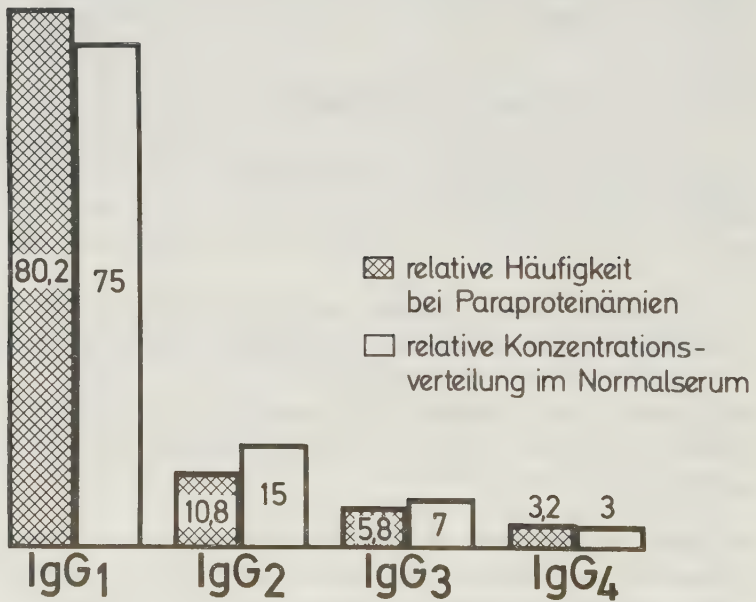


Abb. 7

Häufigkeitsverteilung der IgG-Subklassen bei Paraproteinämien und im Normalserum.

Tabelle 27: Vergleich der IgG-Subklassenverteilung mit Literaturfällen

	n	IgG1 rel. %	n	IgG2 rel. %	n	IgG3 rel. %	n	IgG4 rel. %	S
Skvaril (128)	526	79,8	67	10,1	42	6,3	24	3,6	659
Terry (138)	147	82,5	21	11,7	9	5,0	3	1,6	178
Bernier (4)	88	82,2	11	6,1	7	6,5	1	0,9	107
Virella (151)	89	76,0	12	10,2	12	10,2	4	3,4	117
Eigene Unters.	279	84,4	26	7,9	15	4,6	9	2,7	329
Summe	1029		137		75		41		1282
rel. %		80,2		10,8		5,8		3,2	

4.2.1.2. Epidemiologische Parameter

4.2.1.2.1. Alter

Das Auftreten einer Paraproteinämie ist im mittleren und höheren Lebensalter gehäuft. Mit aufsteigender Häufigkeit tritt sie nach dem 50. Lebensjahr auf und hat nach unseren Untersuchungen den Gipfel zwischen dem 60. und 69. Jahr.

Die Abb. 8 zeigt die eigenen Ergebnisse für IgG-Paraproteinämien graphisch dargestellt.

Der Abfall der Häufigkeit nach dem 80. Lebensjahr hängt möglicherweise damit zusammen, daß die Patienten ihr Myelom nicht mehr erleben und vorher an anderen Erkrankungen sterben.

Untersuchungen von Obersdorfer (108a) führten zu gleichen Ergebnissen, das durchschnittliche Alter lag hier bei 65 Lebensjahren, der Gipfel ebenfalls zwischen dem 60. und 69. Jahr.

Dieses Verteilungsschema gilt für alle IgG-Subklassen. 87 % der Patienten mit IgG1-Paraproteinämien waren über 50 Jahre alt, 94 % waren es bei IgG2, 91 % bei IgG3 und 71 % bei IgG4.

Damit ist nach bisherigen Untersuchungen keine Altersabhängigkeit des Auftretens einer Paraproteinämie mit den IgG-Subklassen gegeben.

ALTERSVERTEILUNG BEI 254 PATIENTEN MIT MONOKLONALER IgG GAMMOPATHIEN

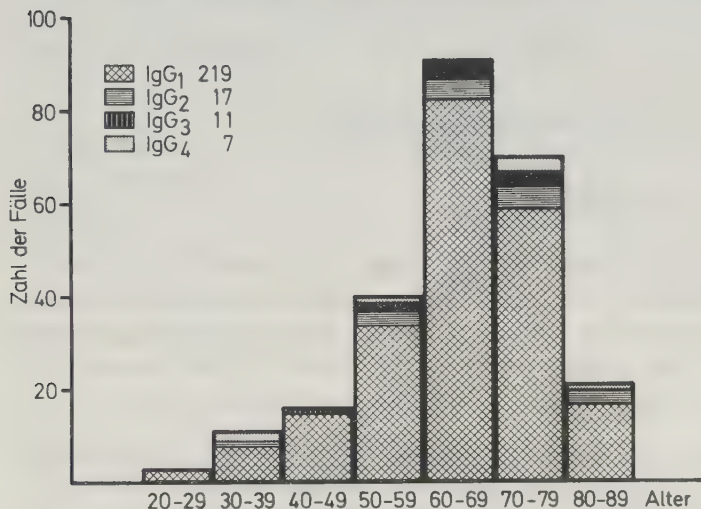


Abb. 8 Altersverteilung von 254 Patienten mit mono-
klonaler Gammopathie.

4.2.1.2.2. Geschlecht

Nach Untersuchungen von Fateh et al. (30) existiert in allen Paraproteinämieklassen eine leichte Bevorzugung des männlichen Geschlechts. Oberdorfer (108a) fand ebenfalls ein leichtes Überwiegen des männlichen Geschlechts in einem Verhältnis von 59 : 41, was in erster Linie auf die Geschlechtsrelation bei IgG- und IgA-Paraproteinämien zurückzuführen ist.

Bei den eigenen Untersuchungen der Subklassen wurden die Männer nur in den IgG₁- und IgG₂-Subklassen bevorzugt.

Ausgeglichene Verhältnisse lägen bei IgG3 vor. Auffällig ist, daß bei IgG4 die Frauen fünfmal häufiger betroffen sind als die Männer. Allerdings kann man wegen der geringen Fallzahl von $n = 6$ noch keine endgültige Aussage darüber machen, ob die IgG4-Paraproteinämie bei Frauen häufiger auftritt.

4.2.1.3. Proteinchemische Parameter

4.2.1.3.1. Gesamteiweiß

Eine Hyperproteinämie ist bei Plasmozytom-Erkrankungen neben dem M-Gradienten eine der häufigsten und charakteristischsten Eiweißveränderungen. Fateh (30) fand sie bei 759 Paraproteinämien in 61 %. Dabei wurde eine durchschnittliche Gesamteiweißkonzentration von $9,01 \pm 2,41$ g/100 ml gemessen.

Nach eigenen Untersuchungen fanden sich bei den IgG-Subklassen eine Hyperproteinämie von über 8 g/dl für IgG1 in 37 % und IgG4 in 25 % der Fälle, geringfügig höhere Prozentwerte ergaben sich für IgG2 (48,5 %) und IgG3 (44,5 %). Die Subklassen zwei und drei scheinen hierbei leicht bevorzugt zu sein.

4.2.1.3.2. Albumin

Das Elektrophoresediagramm zeigt, daß die Gesamteiweißberhöhung in einer Vermehrung der γ -Fraktion begründet ist, relativ dazu sind die anderen Fraktionen vermindert. Wir untersuchten zunächst die Albuminkonzentrationen. Gegenüber den Normalwerten von $4,87 \pm 0,15$ g/100 ml (30) bez. $4,99 \pm 0,47$ g/100 ml (127) fanden wir bei den IgG-Paraproteinämien in über 87 % eine Hypalbumie von unter 4,2 g/100 ml.

Etwa 60 % der Patienten wiesen eine Albuminverminderung unter 3,6 g/100 ml auf. Dabei fällt auf, daß die IgG3-Subklasse stärker betroffen ist als die übrigen. Hier ergab sich eine

Verminderung von unter 3,6 g/100 ml in 88,8 % der Fälle, davon hatten noch 66 % der Patienten eine Albuminkonzentration unter 3 g/100 ml.

4.2.1.3.3. Konzentration des M-Gradienten

Entsprechend wurden die Konzentrationen des M-Gradienten bestimmt. Dabei lagen bei 79 % der IgG1-Paraproteinämien die Konzentrationen im Bereich zwischen 1,1 - 4 g/100 ml, bei IgG2 waren es 67 %, bei IgG3 100 % und bei IgG4 60 %. Höchstwerte über 8 g/100 ml traten nur bei IgG1 auf.

4.2.1.3.4. Leichtkettentyp

Die immunologische Leichtkettenbestimmung ergibt bei IgG ein deutliches Überwiegen des Types Kappa (30, 31). Entsprechend der eingangs formulierten Frage war es von Interesse, zu prüfen, ob dies für alle Subklassen zutrifft, oder ob das Überwiegen von Kappa durch subklassenspezifische Verschiebungen verursacht wird.

Nach eigenen Versuchen beträgt das Verhältnis von Kappa zu Lambda bei IgG1 und bei IgG3 etwa 2 : 1, bei IgG2 und bei IgG4 etwa 1 : 1. Das Verhältnis insgesamt ist hierbei 1,7 : 1.

Einen Vergleich mit Ergebnissen von Oberdorfer (108a) zeigt folgende Tabelle:

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	ges.
Oberdorfer	1,7:2	1,3:1	0,4:1	9:1	1,6:1
Eigene Unters.	1,9:1	0,9:1	2 :1	1:1	1,7:1

Das Gesamtverhältnis stimmt bei beiden Untersuchungen gut überein. Die augenfälligste Abweichung liegt bei IgG4, was wieder durch die geringe Anzahl von IgG4-Myelompatienten begründet sein dürfte.

4.2.1.4. Hämatologische Parameter

4.2.1.4.1. BKS

Eine stark erhöhte BKS ist vielfach der erste Hinweis auf ein Plamozytom, das sich häufig noch in einem relativ symptomfreien Stadium befindet. Jedoch kommen auch normale oder wenig erhöhte Senkungsreaktionen vor. (Übersicht bei Fateh (30).)

Eine Erhöhung der BKS von über 60 mm/1. Stunde trat bei IgG1 in 43,5 % der Fälle auf, für IgG2 in 45 % und für IgG4 in 66,6 %. Auffällig hoch ist der Wert für IgG3 von 83,4 % bei Senkungen über 60 mm. Dabei liegen immer noch 2/3 über 90 mm und 1/3 über 120 mm/1. Stunde. Dies steht im Einklang mit der Fähigkeit der IgG3-Myelomproteine in niedrigeren Konzentrationen als andere Subklassen eine Viskositätserhöhung zu bewirken.

4.2.2. IgA

4.2.2.1. Verteilung der Subklassen

Auch bei den IgA-Paraproteinämien stimmen die eigenen Ergebnisse mit den Angaben der Literatur überein, jedoch ist hier die Aussagekraft wegen dem kleineren Untersuchungsgut geringer.

Wir ermittelten bei der Subklassenidentifizierung eine Verteilung von 98,5 % für IgA1 und 1,5 % für IgA2. Dies entspricht den Ergebnissen von Oberdorfer (108a) mit 95 % für IgA1 und 5 % für IgA2.

Beide Ergebnisse zusammengefaßt ergibt eine Fallzahl von 172 mit einer Verteilung von 97,6 % IgA1 und 2,4 % IgA2. Verglichen mit dem Anteil der IgA1-Subklasse von 80 - 90 % im Normalserum scheint bei den Paraproteinämien nach diesen Ergebnissen die IgA1-Subklasse etwas bevorzugt zu sein. Jedoch muß auch hier die geringe Fallzahl berücksichtigt werden.

4.2.2.2. Epidemiologische Parameter

4.2.2.2.1. Alter

Für die IgA-Paraproteinämien fanden wir ähnliche Ergebnisse wie bei IgG. Auch hier liegt der Erkrankungsgipfel zwischen dem 60. und 69. Lebensjahr mit einem Maximum bei 64 Jahren.

Bei den IgA1-Paraproteinämien begannen etwa 80 % aller Erkrankungen nach dem 50. Lebensjahr. Die beiden Patienten mit IgA2-Paraproteinämien hatten ein Erkrankungsalter über 70 Jahre.

4.2.2.3. Proteinchemische Parameter

4.2.2.3.1. Gesamteiweiß

Auch die IgA-Plasmozytome gehen in den meisten Fällen mit einer Gesamteiweißerrhöhung einher. Bei IgA1 lagen über 90 % der Fälle über 6 g/100 ml, davon etwa 60 % im Bereich zwischen 6 und 8 g/100 ml und 30 % über 8 g/100 ml. Die Patienten mit IgA2-Paraproteinämien hatten ebenfalls ein leicht erhöhtes Gesamteiweiß.

4.2.2.3.2. Leichtkettentyp

Bei der Leichtkettentypisierung war der Vergleich mit den Ergebnissen von Oberdorfer weniger übereinstimmend.

Nach unseren Befunden ergab sich ein leichtes Überwiegen von Lambda bei IgA1, während nach den Untersuchungsergebnissen von Oberdorfer (108a) Kappa überwiegt.

Die nachfolgende Tabelle zeigt eine Zusammenfassung dieser Ergebnisse:

	IgA1	IgA2
Oberdorfer	1,8:1	1:1
Eigene Unters.	1:1,3	1:1

4.2.3. Klinische Parameter

Aus labortechnischen Gründen sind bei verschiedenen anderen Erkrankungen nur sehr selten und meist nur bei wenigen Patienten die Subklassen bestimmt worden.

So wurde von Perutz (114) bei 26 Patienten mit *Lupus erythematos* gezeigt, daß in der Regel alle vier Subklassen an der Bildung antinukleärer Antikörper beteiligt waren, wobei eine gewisse Akzentuierung von IgG1 und IgG3, bei zwei Patienten nur von IgG3 festgestellt wurde.

Zu anderen Ergebnissen kam Tojo (141), hier lagen in allen Fällen die Subklassen IgG1 und IgG2 vor, während IgG4 nie vertreten war.

Bei der *chronisch membranösen Glomerulonephritis* fand sich dagegen eine selektive Erhöhung der IgG3-Subklasse, mit einer gleichzeitigen Verminderung der Gesamt-IgG-Konzentration. Die Ursache hierfür ist noch nicht bekannt. Untersuchungen von Thompson (139) im Urin haben jedoch ergeben, daß das durch die Nieren durchgetretene IgG relativ IgG3-arm ist, was den Schluß zuläßt, daß der Größenunterschied zwischen IgG3 und den anderen Subklassen möglicherweise eine Rolle spielt. Eine proteolytische Spaltung dieser biochemisch labilen Moleküle wäre ebenfalls zu diskutieren.

Untersucht wurden auch die Autoantikörper bei Patienten mit T h y r e o i d i t i s H a s h i m o t o (60a). Hier wurde eine den Werten im Normalserum entsprechende Verteilung gefunden.

Bei anderen polyklonalen IgG-Vermehrungen, wie z.B. bei chron. Leberaffektionen und bei progredient chronischer Polyarthrit, sind alle vier IgG-Subklassen beteiligt. Eine Ausnahme bilden bislang Patienten mit Kala Azar, bei denen die hohe IgG-Konzentration in einer selektiven IgG1-Vermehrung begründet ist.

Alle bisher geleisteten Untersuchungen auf dem Gebiet der Subklassenbestimmung haben gezeigt, daß Abweichungen von der Verteilung der Immunglobuline im Serum von Referenzpersonen bei den einzelnen Erkrankungen existieren können. Hier könnte eine gezielte Weiterführung der Untersuchungen mit einer Quantifizierung der Subklassen im Krankheitsverlauf möglicherweise diagnostische Hilfen und zusätzliche prognostische Aussagen erlauben.

Daneben ist bei der Behandlung von Plasmozytomerkrankungen die Ansprechbarkeit auf Zytostatika von großem klinischen Interesse.

5. Zusammenfassung

Aufgrund umfassenden Literaturstudiums und eigener Untersuchungen von 455 Patienten mit IgG- und IgA-Paraproteinämien konnte im wesentlichen festgestellt werden:

Die Verteilung der Subklassen bei den Paraproteinämien entspricht der relativen Verteilung im Normalserum. Damit ist das Entartungsrisiko der einzelnen Subklassen der Häufigkeitsverteilung entsprechend.

Es besteht keine Altersabhängigkeit des Auftretens einer Paraproteinämie mit den Immunglobulinsubklassen.

Bei den Paraproteinämieklassen besteht eine leichte Bevorzugung des männlichen Geschlechts. Nach eigenen Untersuchungen wird diese in erster Linie bei IgG durch die Subklassen IgG1 und IgG2, bei IgA durch IgA1 bewirkt.

Die Hyperparaproteinämie ist eine der charakteristischen Eiweißveränderungen bei Paraproteinämien. Hierbei tritt bei IgG eine leichte Bevorzugung der Subklassen IgG2 und IgG3 auf.

Die relative Albuminverminderung findet man besonders häufig und in verstärktem Maße bei der IgG3-Subklasse, bei den übrigen Subklassen sind die Verhältnisse in etwa ausgeglichen.

Bei der entsprechenden Konzentrationserhöhung des M-Gradienten wird keine der Subklassen bevorzugt.

Bei Leichtkettenverhältnis Kappa zu Lambda wird das häufigere Auftreten des Typs Kappa in erster Linie durch die IgG1-Subklasse bestimmt.

Die stark erhöhte BKS ist bei allen Subklassen zu finden, auffallend ist jedoch die extreme Erhöhung bei der IgG3-Subklasse. Von einigen Autoren wurden die Subklassen bei verschiedenen Erkrankungen bestimmt. Wegen der geringen Fallzahl läßt sich jedoch noch keine endgültige Aussage machen, in einigen Fällen treten sogar widersprüchliche Ergebnisse auf.

6. Literatur

1. Abel CH, Grey HM,
Nature 233:29 (1971)
2. Abel CA, Winchester RF, Kunkel HG
Medicine 50:125 (1971)
3. Balazs V, Fröhlich MM
Amer.j.med.sci 252:668 (1966)
4. Bernier GM, Ballieux RE, Tominaga K, Putnam FW
J.ep.med. 125:303 (1967)
5. Bonomo L, Lo Spalluto J, Ziff M
Arthr. and Rheum. 6:104 (1963)
6. Boscamp
Bedienungsanleitung für Immunelektrophoresen
Boscamp Gerätebau 5304 Hersel
7. Brambell FWR, Hemmings WG, Oakley CL, Porter RR
Proc.roy.soc.Med. 151:478 (1960)
8. Bridges RA, Condie RM, Zak SJ, God RA
J.lab.clin.med. 53:331 (1959)
9. Caperton EM, Williams RC
J.lab.clin.med. 74:239 (1969)
10. Capra JD, Kunkel HD
J.clin.Invest. 49:610 (1970)
11. Capra JD, Winchester RJ, Kunkel HG
Medicine 50:125 (1971)
12. Cathcart ES, Williams RC, Ross H, Calkins E
Amer.J.Med. 31:758 (1961)
13. Ceppellini CR
Bull WHO 30:447 (1964)
14. Chodirker WB, Tomasi TB,
Science 142:1080 (1963)

15. Christian CL, Hatfield WB, Chase PH
J.clin.Invest. 42:823 (1963)
16. Cream JJ, Howard A, Virella G
Immunology 23:405 (1972)
17. Cream JJ
Proc.roy.soc.Med. 65:274 (1972)
18. Cunningham BA, Gottlieb PD, Königsberg WH, Edelmann GM
Biochemistry 7:1983 (1968)
19. Cunningham BA, Gottlieb PD, Pflumm, Edelmann GM
1st inter. Congr. of immunology 3-24
Academic press New York (1971)
20. Damacco F. Michaelsen TE, Natvig JB
FEBS Lett 28:121 (1972)
21. Dawson G, Clamp JR
Biochem.J. 107:341 (1968)
22. Despont JP, Abel CA
J.Immunol. 112:1623 (1974)
23. Dorrington KJ, Rockey JH
Biochim.Biophys.Acta 200:584 (1970)
24. Edelmann GM
J.Amer.Chem.Soc. 81:3155 (1959)
25. Edelmann GM, Cunningham BA, Gall PD, Rutishauser U
Proc.Nat.Acad.Sci. (Wash.) 207-221 (1970)
26. Edelmann GM
Proc.Nat.Acad.Sci. (Wash.) 190:5 (1971)
27. Edelmann GM, Cunningham BA, Gall WE, Gottlieb PD
Proc.Nat.Acad.Sci. U.S. 63:78 (1969)
28. Fahey JL, Barth WF, Solomon A
J.Amer.Med.Ass. 192:464 (1965)
29. Fahey JL, Solomon A
J.clin.Invest. 42:811 (1963)

30. Fateh-Moghadam, A
Handbuch der Inneren Medizin
Springer Berlin, New York (1974)
31. Fateh-Moghadam A, Lamerz R, Knedel M, Tsirimbas B
Klin.Wschr. 49:458 (1971)
32. Feinstein D. Franklin EC
Nature 212:1496 (1966)
33. Frangione B, Milstein C, Pink J
Nature 221:145 (1969)
34. Frangione B, Milstein C
J.mol.Biol. 33:893 (1968)
35. Frangione B, Wolfenstein-Todel C
Proc.nat.accad.Sci.U.S. 12:3673 (1972)
36. Franklin EC, Holman HQ, Müller-Eberhard JH
J.Exp.med. 105:425 (1957)
37. Franklin EC, Frangione B
J.Immunol. 99:810 (1967)
38. Franklin EC, Frangione B
J.Immunol. 107:1527 (1971)
39. Gaardener PJ, Natvig JB
J.Immunol. 108:617 (1972)
40. Gergely J, Fudenberg HH, Loghem EV
Immunochemistry 7:1 (1970)
41. Gergely J. Stanworth DR, Jeffris R, Normansell DE
Immunochemistry 4:101 (1967)
42. Gergely J. Medgyesi GA, Stanworth RD
Immunochemistry 4:369 (1967)
43. Gergely J. Fudenberg HH, Loghem EV
Immunochemistry 7:1 (1970)
44. Githin D, Koch C,
J.clin.-Invest. 47:1204 (1968)

45. Githin D, Biasucci A
J.clin.Invest. 48:1433 (1969)
46. Götze O, Müller-Eberhard HJ
J.exp.Med. 134:90 (1971)
47. Goldberg LS, Barnett EV
J.Immunol. 99:803 (1967)
48. Grabar P, Williams CA
Biochim. Biophys.Acta 17:67 (1955)
49. Grabar P, Williams CA
Biochim.Biophys.Acta 10:193 (1953)
50. Grey HM, Kohler PF, Terry WD, Franklin ED
J.clin.Invest. 47:1875 (1968)
51. Grey HM, Abel CA, Zimmermann B
Ann. N.Y. Acad.Sci. 190:37 (1971)
52. Grey HM, Kohler PF, Terry WD, Franklin ED
J.clin.Invest. 47:1875 (1968)
53. Grubb R. Laurell AG
Acta path.microbiol.scand. 39:390 (1956)
54. Grubb R
Acta path.microbiol.scand. 39:195 (1956)
55. Grubb R
The genetic markers of human immunoglobulins
Springer Berlin-New York
56. Halpern MS, Koshland ME
Nature 228:1276 (1970)
57. Halpern MS, Koshland ME
J.Immunol. 111:1653 (1973)
58. Halpern MS, Coffman RC
J.Immunol. 109:674 (1972)
- 58a. Handbook of Immunology
DM WEIR Blackwell Scientific Publications,
Oxford, London, Edinburgh, Melbourne

- 59. Harboe M, Osterland CK, Mannik M, Kunkel HG
J.Exp.Med. 116:719 (1962)
- 60. Hay FC, Hull MRG, Torrigiani G
Clin.exp.Immunol. 9:355 (1971)
- 60a. Hay FC, Torrigiani G
Clin.exp.Immunol. 16:517 (1974)
- 61. Henney CS, Welscher HD, Terry WD
Immunochemistry 6:445 (1969)
- 62. Hilschmann N, Craig LC
Proc.nat.accad.Sci.U.S. 53:1625 (1965)
- 63. Hilschmann N, Craig LC
Proc.nat.accad.Sci.U.S. 53:1403 (1965)
- 64. Hildemann H
Immunogenetics
Holden-Day San Francisco (1970)
- 65. Hitzig WH
Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin
Springer Berlin (1963)
- 66. Hong R, Pollara B, Good RA
Proc.nat.accad.Sci.U.S. 56:602 (1966)
- 67. Houba V, Allison AC
Lancet 1966 I : 848
- 67a. Howard A, Virella G
Protides of the biological fluids 17:449
(1969)
- 68. Howell DS, Malcolm JM, Pike R
Amer.J.med. 29:662 (1960)
- 69. Hurlimann T, Walderbuhl M, Zuber C
Biochim.Biophys.Acta 181:393 (1969)
- 70. Ishizaka T, Ishizaka K, Solomon S, Fudenberg HH
J.Immunol. 99:82 (1967)

71. Jefferis R, Weston PD, Clamp JR
Nature 219:649 (1968)
72. Kano K, Migrom F
Transplantation 6:111 (1968)
73. Klein F, van Rood JJ, van Furth R, Radema H
Clin.exp.immunol. 3:703 (1968)
74. Kühn RA
Immunelektrophorese Fibel
VEB Gustav Fischer Verlag Jena
75. Kornfeld R, Keller J. Baenziger J. Kornferd S
Jbiol.Chem. 246:3259 (1971)
76. Kunkel HG, Smith WK, Joslin GF, Natvig JB
Nature 223:1247 (1969)
77. Kunkel HG, Prendergast RA
Proc.soc.exp.biol.Med. 122:910 (1966)
78. Kunkel HG, Joslin FG, Penn GM, Natvig JB
J.exp.Med. 132:508 (1970)
79. Kunkel HG, Tan EM
Adv. Immunol. 4:363 (1964)
80. Kunkel HG, Simon HJ, Fudenberg HH
Arthr.and Rheum. 1:289 (1958)
81. Kunkel HG, Yount WJ, Litwin SD
Science 154:1041 (1966)
82. Lerner AB, Barnum CP, Watson CJ
Amer.J.med.Sci. 214:416
83. Litwin SD, Kunkel HG
Nature 210:866 (1966)
84. Loghem E
Vox Sang. 22:193 (1972)

85. Lo Spalluto J. Dorward B, Miller W
Amer.J.med. 82:142 (1962)
86. Malcolm R, Mc Kenzie, Fudenberg HH
J.clin.Invest. 49:15 (1970)
87. Meltzer M, Franklin EC, Elias K
Amer.j.of med. 40:837 (1966)
88. Martensson L
J.exp.med. 120: 1169 (1964)
89. Martensson L
Vox sang. 11:521 (1966)
90. Martensson L, Kunkel HG
J.exp.med. 122:799 (1965)
- 90a. Mestecky J. Lawton AR
Advances in experimental medicine and
biology. Vol 45 1974
Plemun Press New York-London
91. Mestecky J. Zikan J. Butler WT
Immunochemistry 9:883 (1972)
92. Mestecke J, Schrohenloher RE, Kulhavy R
Proc.nat.acad.sci. (U.S.) 71:544 (1974)
93. Michaelsen TE
Scand.J.Immunol. 2:523 (1973)
94. Michaelsen TE, Natvig JB
Scand.J.of Immunol. 3:865 (1974)
95. Mihaesco E, Seligmann M, Frangione B
Nature 232:200 (1971)
96. Milstein C, Frangione B, Pink RJ
Cold spring harbor symp.quant.biol. 32:31 (1967)
97. Montgomery PC, Dorrington KJ, Rockey JH
Biochemistry 8:1427 (1969)
98. Morell A, Terry WD, Waldmann TA
J.clin.Invest. 49:673 (1970)

99. Morell A, Skvaril F, Baradun S
IgG-Subklassen der menschlichen Immunglobuline
S. Karger, Basel (1974)
100. Morell A, Skvaril F, Loghem E, Leemola H
Vox sang. 21:481 (1971)
101. Morphis LG, Githin D
Nature 228:573 (1970)
102. Natvig JB
Nature 211:318 (1966)
103. Natvig JB, Kunkel HG
Nature 215:68 (1967)
104. Natvig JB, Kunkel HG
Ser. haemat. 1:66 (1968)
105. Natvig JB, Kunkel HG, Joslin FG
J.Immunol. 102:611 (1969)
106. Newcomb RW, Normansell D, Stanworth DR
J.Immunol. 101:905 (1968)
107. Nordic
Monograph series in immunology
Nordic immunolgical laboratories
- 107a. Normansell DE, Young CW,
Immunochemistry 12:187 (1975)
108. Normansell DE, Stanworth DR
Immunology 15:549 (1968)
- 108a. Oberdorfer A, Schnauffer K, Lange HJ, Neiss A
Z.Klin. Chem. Klin. Biochem. 11:51 (1973)
109. Ouchterlony O
Acta-path. microbiol.scand. 32:231 (1953)
110. Ouchterlony O
Progr. allergy 6:30
Karger Basel

111. Parkhouse RME
Nature 236:9 (1972)
- 111a. Pharmacia
Gelfiltration in Theorie und Praxis
Pharmacia fine chemicals Uppsala
- 111b. Pharmacia
Ionenentauscher
Pharmacia fine chemicals Uppsala
112. Press EM, Hogg NM
Nature 223:807 (1969)
113. Peltier A, Christian CL
Arthr. and Rheum. 2:1 (1959)
114. Peruk EM, Yount WJ, Newell M
Clin. Immunol. Immunopath. 2:98 (1973)
115. Peterson EA, Sober HA
J.Amer.Chem.Soc. 78:751 (1956)
116. Pfüller SL, Lüscher EF
J.Immunol. 109:517 (1972)
117. Pillemer L, Blum L, Lepow IH, Ross OA
Science 120:279 (1954)
118. Peetoom F, Loghem E, Langereis E
Vox sang. 10:287
119. Prokop O, Schlesinger D, Falk H
Das deutsche Gesundheitswesen 18:760 (1963)
120. Putnam FW, Easley CW
J.biol.chem. 240:1626 (1965)
121. Riva G
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 66:291 (1960)
122. Saluk PH, Clem LW
J.Immunol. 107:298 (1971)
123. Scheidegger JJ
Intern.arch.allergy 7:103 (1955)

- 124. Schwick G, Störiko K
Laboratoriumsblätter 8:11 (1958)
- 126. Shakib F, Stanworth DR
Anals of the Rheumatic Diseares 37:12 (1978)
- 127. Sheperd HG, Mason CC
Americ.j.Clin.Path. 43:464 (1965)
- 128. Skvaril F, Morell A, Baradun S
Vox sang. 23:546 (1972)
- 129. Smith E, Kochwa S, Wassermann LR
Amer.J.Med. 39:35 (1965)
- 130. Solomon A, Waldmann TA, Fahey HJ
J.lab.clin.Med. 62:1 (1963)
- 131. South MA, Cooper MD, Wollheim FA, Hong R
J.exp.Med. 123:615 (1966)
- 132. Spiegelberg HL, Prahl JW, Grey HM
Biochemistry 9:2115 (1970)
- 133. Spiegelberg HL, Abel CA, Fishkin BG
Biochemistry 9:4217 (1970)
- 134. Spiegelberg HL, Fishkin BG, Grey HM
J.clin.Invest. 47:2323 (1968)
- 135. Spiegelberg HL, Fishkin BG,
Clin.exp.Immunol. 10:599 (1972)
- 136. Spiegelberg HL, Grey HM
J.Immunol. 101:711 (1968)
- 137. Terry WD, Fahey JL
Science 146:400 (1964)
- 138. Terry WD, Fahey JL, Steinberg AG
J.exp.Med. 122:1087 (1965)
- 139. Thompson RA
Brit. med.j. 282 (1972)
- 140. Titani K, Whitley E, Avogardo L, Putnam FW
Science 149:1090 (1965)

141. Tojo T, Frion GJ, Spiegelberg HJ
Clin.exp.immunol. 6:145 (1970)
142. Tomasi TB, Tan EM, Solomon A
J.exp.Med. 121:101 (1965)
143. Tomasi TB, Calvanico N
Fed.Proc.Fed.Amer.Soc.Exp.Biol. 27:617 (1968)
144. Tomasi TB, Fudenberg HH, Finby N
Amer.J.Med. 33:245 (1962)
145. Tomasi TB, Bienenstock J
Adv.immunol. 9:1 (1968)
146. Turner MW, Bennich HH, Natvig JB
Nature 225:853 (1970)
147. Turner MW, Bennich HH, Natvig JB
Clin.exp.Immunol. 7:603 (1970)
148. Turner MW, Bennich HH, Natvig JB
Clin.exp.Immunol. 7:627 (1970)
149. Uriel J, Garbar P, Wunderly Ch
Clin.chim.acta. 2:35 (1957)
150. Vaermann JP, Heremans JF
Science 153:647 (1966)
151. Virella G, Hobbs JR
Clin.exp.Immunol. 9:973 (1971)
152. Virella G
Brit.med.j. 322 (1971)
153. Virella G, Parkhouse RME
Immunochemistry 8:243 (1971)
154. Virella G, Parkhouse RME
Proc.20th Coll.Bruges 1972
Pergamon Press (1973) :43
155. Virella G, De Pascale A, Lippi U
Experientia 27:324 (1971)

- 156. Virella G, Nunes MA, Tamagnini G
Clin.exp.immunol. 10:475 (1972)
- 157. Waller M. Toone EC, Vaughan E
Arthr. rheum. 7:513 (1964)
- 158. Waller M, Vaughan E
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 92:198 (1956)
- 159. Wang AC, Fudenberg HH
J.immunol. 105:1286 (1970)
- 160. Wang AC, Faulk WP, Stuckey MA
Immunochemistry 7:703 (1970)
- 161. Williams RC, Kunkel HG
J.clin.Invest. 41:666 (1962)
- 162. Wolfenstein-Todel, Frangione B, Franklin EC
Biochemistry 11:3971 (1972)
- 163. Wolfenstein-Todel, Frangione B, Mihaesco E
Biochemistry 10:4140 (1971)
- 164. Wuhrmann F, Märki HH
Materia medica 14:227 (1962)
- 165. Yount WJ, Dorner MM, Kunkel HG
J.exp.Med. 127:633 (1968)
- 166. Zak SJ, Good RA
J.clin.Invest. 38:359 (1959)
- 167. Zimmermann B, Grey HM
Fed.Proc.Fed.Amer.Soc.Exp.Biol. 30:594 (1971)

Lebenslauf

Jürgen Saile	geboren 25.10.1947 in München
1953 - 1957	vierjährige Volksschule in München
1957 - 1967	Gymnasium in Offenburg/Baden
1967	Reifeprüfung in Offenburg
1968 - 1969	Militärzeit
1970	Beginn des Chemiestudiums an der Technischen Universität München
1973	Vordiplom
1973 - 1978	Medizinstudium an der Universität München
1978	ärztliches Staatsexamen
ab 1.8.1978	tätig als Assistenzarzt am Institut für Klinische Chemie der Universität München

